UNIVERSITE DE PARIS - FACULTE DE PHARMACIE

Année 1966. Série U - N° 437

THESE

présentée

A LA FACULTE DE PHARMACIE

DE L'UNIVERSITE DE PARIS

pour l'obtention du titre de
Docteur de l'Université de Paris
(Mention Pharmacie)

par

Mme. Michèle LUTZ

Présentée et soutenue publiquement le : 22 JUIN 1966

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU POUVOIR DETOXIQUANT DU Ca-DTPA CHEZ L'ANIMAL CONTAMINE PAR LE PLUTONIUM, COMPARAISON DE SON EFFICACITE A CELLE D'AUTRES CHELATEURS.

Jury : Mr. le Professeur TRUHAUT — *Président*

Mr. le Professeur BOUDENE
Mr. le Professeur COHEN
} *Examinateurs*

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU POUVOIR DETOXICANT DU Ca-DTPA

CHEZ L'ANIMAL CONTAMINE PAR LE PLUTONIUM

COMPARAISON DE SON EFFICACITE A CELLE D'AUTRES CHELATEURS

o O o

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

PERSONNEL DE LA

FACULTE DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

VALETTE G ..... Doyen, O +
JANOT M.M ..... Assesseur, O +
RAOUL Y ..... Assesseur, +
RODINEAU L ..... Secrétaire général; +
FERRARI (Mme S.) ..... Attachée principale
JEANDEL L ..... Attaché
ESPINASSE (Mme M.L) ..... Attachée
PEILLON (Mme C.) ..... Attachée
BRENN A ..... Attaché, +
JACOB A ..... Attaché, +

DOYEN HONORAIRE

FABRE R ..... Membre de l'Institut, C +

PROFESSEURS HONORAIRES

LAUNOY L ..... O +
FLEURY P ..... O +
PICON M ..... O +
BEDEL C ..... +
FABRE R ..... Membre de l'Institut, C +

PROFESSEURS

JANOT M.M, O+, ... Pharmacie Galénique (T)

VALETTE G. , O +, ... Pharmacodynamie (T)

PARIS R., +, Q..... Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale (T)

GUILLOT M.,O+..... Physique (T)

GAUTIER J.A,O+..... Chimie organique (T)

LAMBIN (Mle S.) +, ... Microbiologie (T)

RAOUL Y.,+, ... Physiologie (T)

COURTOIS J. ,+, ... Chimie biologique (T)

DOMANGE L., O +, ... Chimie Générale et minérale (T)

TRUHAUT R., O + , ... Toxicologie et Hygiène industrielle (T)

MORETTE A.,+, ... Hydrologie (T)

CAVIER R.+, ... Parasitologie (T)

QUEVAUVILLER A.,+, ...Hygiène et Education sanitaire (T)

MOREAU R. ,+, ...Pharmacie chimique (T)

GERMAN A. , ... Virologie et Sérologie (T)

PIETTE M., +, ... Biologie sanguine (T)

MALANGEAU P. ..... Chimie analytique (T)

GIRARD M. ,+, ... Biochimie appliquée (T)

DILLEMANN G. , ... Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie (T)

DEYSSON G., ... Botanique (T)

FLAHAUT J. . ..... Minéralogie (T)

BOUDENE C. , ... Toxicologie et Hygiène industrielle (T)

RENAULT J. , ... Chimie organique (T)

LE HIR A. , ... Pharmacie galénique

LARUELLE P., ... Physique

ROSSIGNOL P.,..... Pharmacodynamie

MANGEOT A., ... Pharmacie galénique industrielle

DELAVEAU P., ... Matière médicale

COHEN Y., ... Sciences naturelles (Pharmacodynamie)

RENAULT H., ... Physique

BOURDON R., ... Chimie analytique

REYNAUD P., ... Pharmacie chimique

MAITRES DE CONFERENCES

LE MOAN G ..... Toxicologie
PAOLETTI C ..... Toxicologie
POISSON J ..... Pharmacie galénique
DESVIGNES A ..... Cryptogamie et technique bactériologique
PERCHERON F ..... Chimie biologique
SAVEL J ..... Biologie animale
BORY M ..... Microbiologie
MIOCQUE M ..... Chimie organique
GUIGNARD J.L ..... Botanique générale
GOUNELLE J.C ..... Physiologie
BINET P ..... Biologie animale
COMBE T - FARNOUX C ..... Chimie organique
PLAT (Mme M) ..... Législation et Déontologie pharmaceutique
DELACOUX E. ..... Pharmacie chimique
ADOLPHE C ..... Physique
DIDRY J ..... Mathématiques appliquées aux sciences expérimentales
GUERNET M ..... Chimie analytique
KHODADAD P ..... Chimie minérale
LEDOUBLE G ..... Chimie minérale

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

ASTIN C (F.F) ..... Physique
AYMARD P (F.F) ..... C.E.S. Analyse appliquée au contrôle des médicaments, Section Biologie.
BLANC (Mme J) ..... Chimie organique
BONNET C (F.F) ..... Mathématiques
BOURNIQUE (Mle C.) . (F.F) ..... Physiologie végétale

..../ ....

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES (Suite)

CARLIER A. (F.F) ..... C.E.S. Pharmacie Galénique Industrielle
CENAC (Mme J.) (F.F) ..... C.E.S. Parasitologie Pharmaceutique et Technique
CHARPENTIER (Mme M.) ..... Chimie préparation
CHARLES J. (F.F) ..... Mathématiques
CHOIX (Mle) ..... Pharmacie Galénique
DAGRON C ..... Chimie organique
COMPAGNON P. (F.F) ..... Chimie organique
DECAUDIN (Mle M.T) ..... Parasitologie
DREUX C ..... C.E.S. Electrochimie appliquée à l'analyse
DUMANT G. (F.F) ..... Chimie préparation
ETIENNE J. (F.F) ..... Physique
FLEURY (Mle S) ..... Chimie
GESTEAU P. +, ... C.E.S de Biochimie
GOURSAT (Mle M.J) (F.F) ..... Botanique
GUERIN H. +, ... Essais des drogues végétales
HAMON M ..... Chimie analytique
HARISPE (Mme M) ..... Chimie organique
HARISPE J. +, ... Chimie organique
HAZEBROUCQ G ..... Physique
HENRY J ..... Chimie
HUBERT (Mme J.) ..... C.E.S Bactériologie Pharmaceutique et Technique
HURON (Mme M.J) (F.F) ;..... Mathématiques
JUND (Mle Y.) ..... C.E.S Immunologie
LAROCHE J ..... Physique
LEGER (Mme N.) (F.F) ..... Zoologie

.... / ....

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES (Suite)

LELUC R ..... Microbiologie
LEMONNIER A ..... Chimie analytique
LONGEVIALLE (Mle M.) (F.F) ..... Botanique
LONGUEVALLE (Mle S.) ..... Chimie analyses
MANDEREAU J. (F.F) ..... C.E.S . Pharmacotechnie chimique et galénique
MARTIN-FRERE H ..... Chimie organique
MORIN (Mle H) ..... C.E.S. Pharmacodynamie et essais biologiques des médicaments
MOSKOWITZ H ..... Chimie organique
NOTTEGHEM (Mme M.) (F.F) ..... Zoologie
NGUYEN PHU. LIGH (F.F) ..... C.E.S. Toxicologie et études sanitaires
PERLES R ..... C.E.S Biochimie
PESTIS J. (F.F) ..... Biologie animale
PINGUET (Mle A.)(E.F)..... C.E.S. analyse appliquée au contrôle des médicaments, Section Physico-Chimie.
POULLAIN P ..... C.E.S Hématologie
POUSSET J-L (F.F) ..... C.E.S Pharmacotechnie chimique et galénique
PRAT (Mme M-T) (F.F) ..... Mathématiques
RAYNAUD G ..... Anatomie et histologie
RIVE T J ..... Physique
ROLLEN (Mle A.) +. ..... Botanique
ROBERT (Mme M.) q ..... C.E.S Immunologie Générale et appliquée
SEILLER (Mme M.) (F.F) ..... Pharmacie Galenique Industrielle
THUONG CONG TRIEU (F.F) .....Chimie analytique
YONGER J ..... Chimie analytique

BIBLIOTHEQUE

RUYSSEN (Mle Y.) + , ... Conservateur en Chef , chargé de la Direction

LAVAUD (Mle S.) + , ... Conservateur

DESGRIPPES (Mme A.) ..... Bibliothécaire

BOUVRESSE (Mle A. M.) ..... Bibliothécaire

-:-:-:-:-:-:-:-:-

LEGENDE

+ Légion d'honneur

O Officier

C Commandeur

A Monsieur R. TRUHAUT

Professeur à la Faculté de Pharmacie
de PARIS

qui nous a fait le grand honneur de nous accepter parmi ses élèves, nous a fixé le sujet de cette thèse, et nous a guidée de ses précieux conseils tout au long de notre travail. Il n'a pas cessé de nous donner maintes preuves de son extrême bienveillance et de nous faire bénéficier de ses vastes connaissances et de son expérience incomparable en matière de recherches toxicologiques.

Qu'il veuille bien accepter l'expression de nos vifs remerciements et de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur C. BOUDENE

Professeur à la Faculté de Pharmacie
de PARIS.

qui a guidé inlassablement nos recherches. L'amicale bienveillance qu'il nous a toujours témoignée a crée une atmosphère de travail fructueuse et agréable.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre attachement.

A Monsieur Y. COHEN

Professeur à la Faculté de Pharmacie
de PARIS

dont nous n'oublions pas l'aide amicale qu'il nous a apportée lors de nos débuts dans la vie hospitalière. Il a bien voulu examiner ce travail avec toute sa compétence de spécialiste en radiobiologie.

Qu'il trouve ici avec nos remerciements, l'assurance de notre sincère admiration .

A Monsieur P. LAURENT

Directeur du Centre d'études
de BRUYERES - le - CHATEL.

qui a bien voulu nous accueillir dans son Centre, qui a permis et encouragé la réalisation de ce travail.

Qu'il veuille bien trouver ici le témoignage de notre attachement.

A tous ceux qui ont collaroré à ce travail, en témoignage d'amitié.

INTRODUCTION

Au cours de ces dix dernières années, des progrès spectaculaires ont été effectués dans le domaine de l'antidotisme avec l'apparition de corps dérivés de l'acide éthylène-polyamino-polycarboxylique. La configuration spatiale de leur formule leur permet à la faveur d'échanges de ligands d'enserrer un métal au sein de leur molécule comme à l'intérieur d'une pince (χηλη) pour le masquer vis-à-vis de ces réactifs chimiques habituels, d'où le nom de "chélateurs" que l'on a donné plus spécialement à cette nouvelle famille de composés chimiques. Leur utilisation en thérapeutique des intoxications repose sur la formation de complexes métalliques aisèment excrétables obtenus par "chélation" des ions métalliques toxiques, soit au niveau de la circulation, soit, mieux au niveau de récepteurs présentant une affinité élective pour ces métaux. Les chélateurs doivent avoir une molécule très diffusible et difficile à métaboliser pour leur permettre d'atteindre le métal toxique jusqu'au niveau de récepteurs parfois profonds - Le "chélate" formé qui ne possède plus la toxicité du métal initial doit être également très diffusible afin de franchir aisèment le filtre rénal qui en est l'émonctoire le plus important. Il doit également posséder une constante de dissociation très faible pour éviter une ré-ionisation du métal au niveau du rein lors de la réabsorption tubulaire qui se traduirait, au contraire de l'effet cherché, par une élévation de la toxicité par accumulation sélective du toxique au niveau de l'organe. Enfin, le chélateur lui-même doit posséder une toxicité négligeable, et, son administration ne doit pas

entraîner d'effet toxique ni à court terme, ni à moyen terme dans le cas d'une administration suffisamment prolongée.

Parmi les éléments radioactifs, le plutonium occupe une place de choix, sur le plan toxicologique, possédant une période physique et une période biologique toutes les deux très longues ; il émet, pendant toute la vie d'un individu exposé à son action, un rayonnement α très ionisant, et sa présence, principalement au niveau du tissu osseux où il se fixe préférentiellement, se traduit alors par l'apparition de lésions et en particulier de proliférations malignes. Comme de nombreux métaux à structure électronique complexe, il forme avec les chélateurs des produits solubles très stables dont l'excrétion est rapide.

L'intérêt que présente actuellement le plutonium, aussi bien comme toxique industriel que comme agent de contamination de l'environnement intéressant la sécurité des populations à l'échelle mondiale, a incité le Professeur TRUHAUT et le Professeur BOUDENE à nous proposer ce travail qui correspond, d'une part, à des préoccupations journalières au sein du Commissariat à l'Energie Atomique et s'inscrit, d'autre part, dans le cadre des travaux poursuivis depuis 1956 au laboratoire de Toxicologie de la Faculté de Pharmacie de Paris sur l'utilisation des chélateurs dans un but de diagnostic et de thérapeutique de l'intoxication par différents métaux.

Nous avons distingué dans l'exposé de nos travaux quatre parties :

- Dans une première partie de généralités, nous rappellerons ce qu'est le mécanisme de la chélation en définissant la nature des liaisons formées, la structure de différents chélates et leurs propriétés physicochimiques permettant de comprendre leur utilisation pharmacologique dans le traitement de l'intoxication par le plutonium. Nous envisagerons également les manifestations de toxicité susceptibles d'être observées lors de l'emploi thérapeutique, des agents de chélation, et nous essaierons de tirer des conclusions pratiques sur les qualités que doit, en général, posséder un chélateur.

- Dans une deuxième partie, nous comparerons l'efficacité de différents chélateurs sur l'élimination urinaire du plutonium chez le rat intoxiqué, qu'il s'agisse de dérivés des acides polyaminocarboxyliques ou de la desferrioxamine.

- La comparaison des résultats obtenus étant favorable au DTPA, nous avons choisi de porter une attention particulière à ce chélateur. Ses modalités d'action, du point de vue du rythme de défixation du radionuclide sous son influence, et du point de vue du rapport dose/effet, ont été étudiées en vue de préciser les meilleurs conditions d'emploi de cet antidote et de manière à exclure au maximum l'éventualité de phénomènes de nocivité.
- Nous avons attaché une importance particulière à l'étude de la toxicité, aussi bien aigue que chronique, du Ca-DTPA. Ce dernier retiendra particulièrement notre attention, car il concerne toutes les possibilités d'utilisation de ce chélateur dans un but de prévention ou même dans le cadre d'un traitement prolongé. A cet effet, tout en envisageant les critères généralement admis pour apporter la preuve d'une atteinte de l'organisme sur un plan général (surveillance pondérale de la croissance des animaux, examens anatomopathologiques), nous nous sommes plus spécialement efforcé de dresser le bilan de l'élimination de certains cations physiologiques dont la fuite hors de l'organisme, régulièrement entretenue par l'administration répétée de chélateur, pourrait risquer, à la longue, d'être à l'origine de véritables lésions biochimiques par carence.

Avant de commencer cet exposé, nous sommes heureuse de pouvoir exprimer ici, notre respectueuse gratitude à Monsieur le Professeur TRUHAUT, qui a bien voulu accepter de diriger ce travail. Notre séjour dans son laboratoire nous a permis de profiter de son expérience incomparable des problèmes toxicologiques et de nous imprégner à notre tour de l'enthousiasme scientifique qu'il sait si bien communiquer à ses élèves .

Nous tenons également à exprimer notre respectueux attachement à Monsieur le Professeur BOUDENE qui a pendant de longues années suivi et orienté ces recherches avec une attention toujours amicalement soutenue.

Nous remercions enfin Monsieur le Professeur COHEN qui a bien voulu se souvenir d'une amitié de longue date et accepter de juger ce travail.

P R E M I E R E P A R T I E

Généralités

- CHAPITRE I - GENERALITES SUR LA CHELATION ET LES CHELATES METALLIQUES -

Dans ce premier chapitre, nous rappellerons ce qu'est la chimie des composés chélatés métalliques et les différents phénomènes qui sont à la base de l'action pharmacologique étudiée.

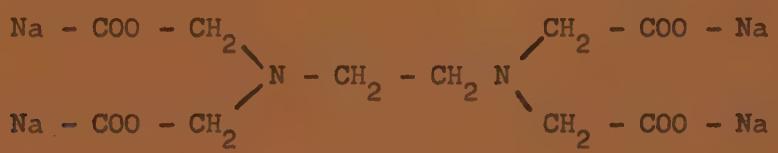
A partir de la définition de la chélation, nous évoquerons :

- les différents types de liaisons qui unissent les atomes d'une même molécule,
- le comportement des ions métalliques en solution,
- les substances chélatrices et les composés formés,
- la structure de ces composés,
- leurs propriétés physico-chimiques, en particulier leur stabilité.

1°) - TYPES DE LIAISON -

On dit qu'il y a chélation lorsque dans une molécule peut s'établir, en plus des liaisons de type ionique et covalent, une liaison par pont "hydrogène". Le complexe obtenu, un chélate, a une structure cyclique. Par extension, MORGAN (1) a proposé de désigner ainsi le composé dans lequel un atome métallique est lié à deux atomes d'une même molécule en formant un cycle. L'atome métallique peut avoir plus de deux points d'attache avec le chélateur et la molécule est dans ce cas polycyclique.

Dans la molécule chélatrice, par exemple l'EDTA sous forme de sel sodique, les atomes sont unis par des liaisons de deux types : ionique ou atomique.



Les 4 atomes de sodium forment des liaisons par électrovalence. Mais si le sodium est remplacé par d'autres atomes métalliques, nous verrons que la liaison devient covalente. Ceci nous amène à schématiser ce que sont ces deux types de liaison.

a) La liaison ionique -

- existe entre deux atomes ionisés porteurs de charge de signe opposé,
- est assurée dans des forces électrostatiques,
- n'est pas dirigée.

L'établissement d'une telle liaison dépend de l'aptitude qu'ont les atomes à perdre ou à gagner un ou plusieurs électrons et des quantités d'énergie extérieure disponible pour ce processus.

La dimension de l'ion formé est caractérisée par le rayon ionique ; l'énergie de la liaison qui s'établit entre les deux ions en dépendra.

b) La liaison atomique ou covalente -

- s'établit entre deux atomes,
- est de nature électrostatique, elle résulte d'une accumulation de charge négative entre les noyaux positifs,
- est due le plus souvent à la mise en commun d'une paire d'électrons. Cette mise en commun est le plus souvent bilatérale : couplage de deux électrons célibataires appartenant à deux atomes différents, elle est dite homopolaire. Elle peut être unilatérale, les deux électrons étant fournis par un des deux atomes, l'autre possédant une orbitale vide, à condition que l'énergie de l'orbitale atomique initialement vide soit égale ou inférieure à celle de l'orbitale initialement saturée ; elle est dite alors de coordinence ou semi-polaire et s'accompagne d'une polarisation plus ou moins importante de la liaison; l'atome donneur prend une polarité positive et l'atome "accepteur" une polarité négative d'où la probabilité d'un moment dipolaire élevé pour la liaison,
- peut être due à un seul électron, ex. : H_2^{++} ou à trois électrons, ex. : He_2^{+} [2]
- s'établit selon SLATER et PAULING dans une direction qui est définie par les zones de probabilité maximum de présence pour les électrons qui peuvent se coupler [3.4.5]

La valence d'atome dans un édifice covalentiel est le nombre de paires d'électrons qu'il est susceptible de posséder en commun avec les atomes voisins.

Le mécanisme d'établissement de la liaison covalente a été expliqué par la formation d'une orbitale moléculaire localisée, formation rendue possible grâce au remaniement des orbitales atomiques par hybridation.

Les orbitales atomiques mises en cause par la liaison des deux atomes doivent :

- avoir des niveaux d'énergie peu différents,
- se recouvrir partiellement : du taux de recouvrement dépend l'énergie de liaison,
- être symétriques par rapport à l'axe passant par les noyaux des atomes,

La distance existant entre deux atomes donnés, associés par une liaison atomique est invariable quel que soit l'édifice moléculaire dans lequel les atomes sont enfermés. Il est donc possible d'assigner à un atome un "rayon de covalence". Le lien de covalence ne peut s'établir que si les deux atomes sont à une distance l'un de l'autre au plus égale à la somme des rayons de covalence. Il existe une différence fondamentale entre rayon de covalence et rayon ionique : le premier n'est valable que dans la direction privilégiée de liaison, alors que le rayon ionique l'est dans toutes les directions.

Suivant la disposition géométrique des orbitales atomiques par rapport à l'axe de la molécule, la liaison covalente qui s'établit sera :

- soit une liaison simple localisée provenant d'un recouvrement axial d'orbitales atomiques; l'orbitale moléculaire qui en résulte est de révolution autour de l'axe (liaison σ)
- soit une liaison π si elle résulte de l'empiètement latéral d'orbitales allongées du type p ou d dont les axes se rapprochent en restant parallèles. Cette liaison ne peut exister sans une liaison σ préalable : la double liaison est donc due à la coexistence d'une liaison σ et d'une liaison π, le triple liaison à la coexistence d'une liaison σ et de deux liaisons π.
  Dans de très nombreux cas, il y a fusion de plusieurs orbitales moléculaires dans une même molécule en une seule orbitale moléculaire délocalisée. La liaison π est dite délocalisée ou ineffective, les électrons de ces liaisons $\prod$ sont appelés électrons

mobiles. Ceci entraîne l'existence d'une énergie supplémentaire dite de résonance.

Entre deux atomes la liaison qui existe peut présenter des caractéristiques intermédiaires entre la covalence et la liaison ionique. Ainsi une liaison de nature purement covalente a un moment dipolaire nul. Or, l'expérience montre dans bien des cas l'existence d'un moment dipolaire non nul, et ceci est dû à l'influence que chaque atome aura sur la liaison qui les lie ; le doublet électronique est attiré préférentiellement par le plus électronégatif des deux atomes. Il y a déformation de l'orbitale moléculaire de liaison d'où l'existence d'un fort dipole admettant le même axe que la liaison Atome-H.

Le moment dipolaire de liaison est pratiquement indépendant du reste de la molécule ; le moment dipolaire de la molécule entière étant la somme vectorielle des moments dipolaires de toutes ses liaisons.

Une liaison est d'autant plus polarisée que la différence d'électronégativité des atomes est plus marquée.

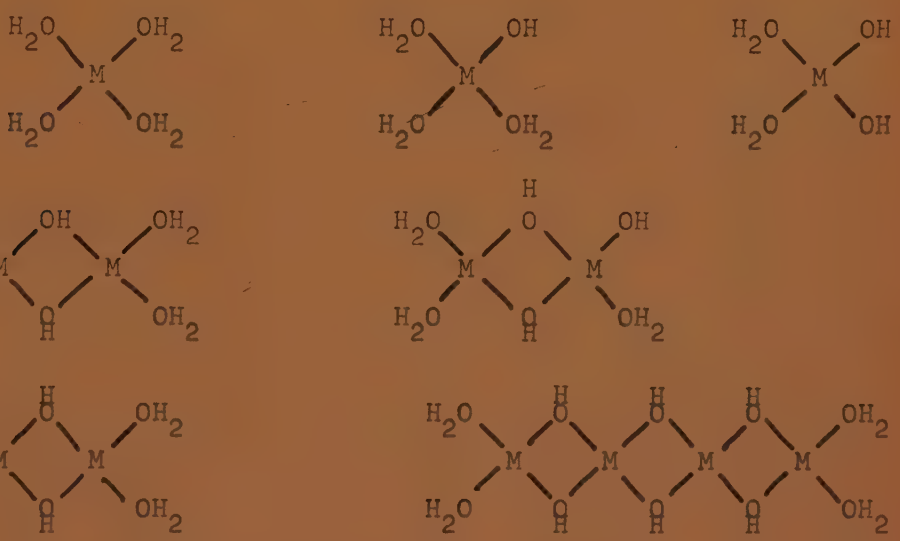
A la limite, une liaison covalente polarisée entre deux atomes devient une liaison électrovalente entre deux ions.

2°) - COMPORTEMENT DES IONS METALLIQUES EN SOLUTION -

En solution aqueuse, les possibilités de coordinations des ions métalliques sont satisfaites plus ou moins complètement par les molécules d'eau. L'atome d'oxygène de la molécule d'eau, donneur d'électrons, crée par mise en commun d'un doublet électronique, une liaison dont le caractère covalent varie suivant la nature de l'atome métallique. Généralement la tendance d'un ion métallique à l'hydrolyse augmente avec sa charge. Dans le cas d'ions métalliques peu basiques, la liaison est fortement covalente, le nombre des molécules coordinées et leur direction est relativement fixe.

Au contraire, dans le cas des métaux alcalins, le caractère covalent diminue. Pour les alcalino-terreux et beaucoup de métaux divalents, l'hydrolyse entraîne la formation d'un monohydroxyde intermédiaire peu abondant, puis d'un dihydroxyde qui précipite.

Les autres métaux donnent des réactions de complexité variable : il peut se former des espèces polymériques où plusieurs groupements sont liés par des ponts hydroxy. Ce phénomène a reçu le nom d'olation (Cf. formules). Ce type de réaction a été décrit pour la première fois par PFEIFFER et WERNER.[6.7]



Dans le cas où un hydroxyde mononucléaire seul est formé, le nombre moyen des OH^- liés par l'ion métallique est indépendant de la concentration de l'ion métallique. En général, la concentration en complexe polynucléaire diminue avec la solution; un "mur mononucléaire" est atteint, tel que au-dessous de cette concentration critique en ions métal, on est seulement en présence de complexe mononucléaire. Quelques cations, tels que Th, U et peut être Pu ne donnent pas de complexes mononucléaires mais directement des ions métalliques.

3°) - SUBSTANCES CHELATRICES ET COMPOSES FORMES -

En solution aqueuse, un complexe métallique est un composé de coordination dans lequel une ou plusieurs molécules d'eau de la "sphère d'hydratation" de l'ion métallique ont été remplacées par une molécule donneuse d'électrons.

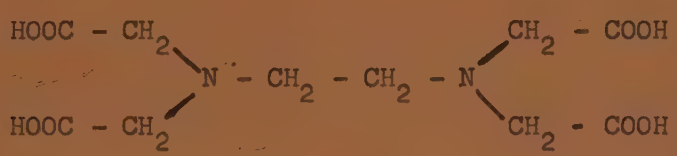
Un composé métallique chélaté est un complexe métallique

dans lequel deux atomes donneurs (ou plus) de la même molécule sont coordinés au métal. Mais on ne peut, à priori, affirmer qu'un coordinant n fois denté remplacera n molécules de solvant.

Les substances douées de propriétés chélatrices qui nous intéressent sont des acides éthylène polyaminopolycarboxylique. Ces molécules connues depuis 1930 ont une application analytique depuis 1946 grâce aux travaux de SCHWARZENBACH et coll. qui ont étudié leurs caractéristiques physico-chimiques, constante de dissociation, etc... et ont créé une nouvelle méthode analytique : la complexométrie [8]

L'EDTA chef de file de cette série est un tétracide diamine tertiaire obtenu par substitution de 4 groupes acétiques sur les N de l'éthylène diamine. C'est une poudre blanche, inodore qui fond à 235-240° en se décomposant, peu soluble dans l'eau (0,14% à 20°), insoluble dans les acides et les solvants organiques, soluble dans les bases.

formule :



Par dissociations successives :

$$Y H_4 \rightleftharpoons Y H_3^- + H^+ \qquad pK1 = 2,0$$

$$Y H_3^- \rightleftharpoons Y H_2^{2-} + H^+ \qquad 2,76$$

$$Y H_2^{2-} \rightleftharpoons Y H^{3-} + H^+ \qquad 6,16$$

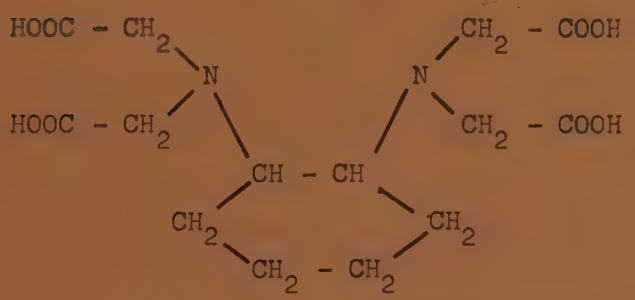
$$Y H^{3-} \rightleftharpoons Y^{4-} + H^+ \qquad 10,3$$

La molécule possède six positions de coordinence, c'est-à-dire six atomes donneurs d'un doublet électronique : les 2 atomes N des fonctions amino et 4 atomes d'O des 4 fonctions acides.

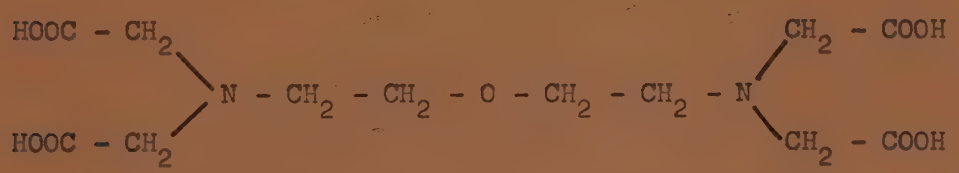
A partir de cette substance de base, d'autres molécules ont été étudiées et en particulier :

A) - Le C.D.T.A. ou Acide Cyclohexane-diamino-tétracétique -

Le groupe $CH_2 - CH_2$ est remplacé par un noyau cyclohexane mais l'écartement entre les 2 N est toujours de 2 C. Dans ce cas la libre rotation autour de la liaison C-C des 2 C séparant les groupes iminoacétate possible pour l'EDTA est limitée et les N sont fixées. Il est vraisemblable que les groupes iminodiacétate soient en position diaxiale à cause de la répulsion électrostatique de leur charge négative. La chélation d'un métal change la conformation du cycle hexane de telle sorte que les groupes occupent une position équatoriale qui facilite la formation du cycle chélate,



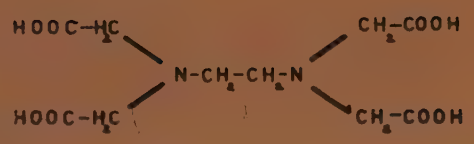
B) - Le B.A.E.T.A. ou Acide Biamino-diéthyléther-tétracétique, dans la molécule duquel la chaîne $CH_2 - CH_2$ de l'EDTA est remplacée par $CH_2 - CH_2 - O - CH_2 - CH_2$



C) - Le D.T.P.A. ou Acide Diéthylènetriaminopentacétique - qui présente 5 groupements - COOH.

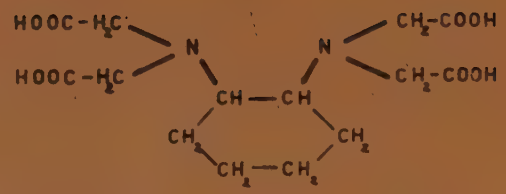
Ici le $CH_2 - CH_2$ est remplacé par $CH_2 - CH_2 - N(CH_2 - COOH) - CH_2 - CH_2$

EDTA



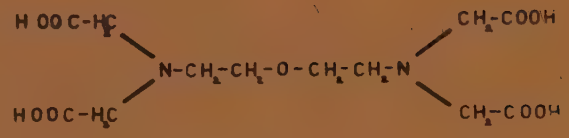
Acide Ethylenediaminetetracetique

CDTA



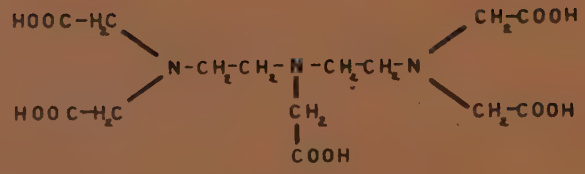
Acide Cyclohéxanediaminetétracétique

BAETA



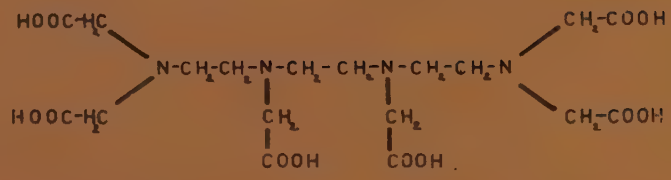
Acide Biaminodiethyléthertétracétique

DTPA



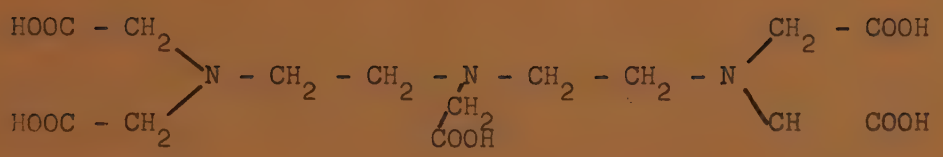
Acide Diéthylenetriaminepentacetique

TTHA

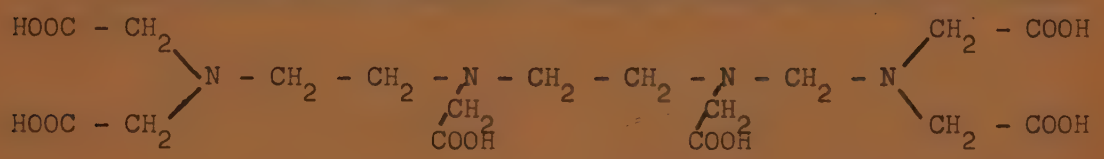


Acide Triethylènetétraminehéxaacétique

TABLEAU N°1



D) Le T.T.H.A. ou Acide Triéthylènetetraminohexacétique a 6 - COOH.



4°) STRUCTURES DES CHELATES -

La configuration des composés formés peut être déterminée expérimentalement par de nombreuses méthodes,

- tant chimiques : par blocage de certaines positions de coordination et substitution sur les autres donnant des isomères dont les propriétés chimiques différent.
- que physiques : toutes les méthodes applicables aux molécules organiques complexes le sont théoriquement aux chélates.

A la base des connaissances actuelles il y a les travaux de WERNER concernant la coordination du Cobalt par différents complexants unidentés ou polydentés comme l'éthylènediamine. Récemment, les études les plus intéressantes ont été faites par spectrométrie d'absorption infra-rouge méthodes magnétiques, spectrographie x. Ces méthodes dont nous ne détaillerons pas les résultats ont permis de mettre en évidence les relations métal-molécule organique, le nombre de coordination du métal lié, la nature de la liaison métal-atome donneur d'électrons, la structure géométrique du chélate.

Les liaisons qui unissent un ion métallique aux différents groupes donneurs d'une molécule organique peuvent être ioniques ou covalentes ; elles tendent, d'après les hypothèses de PAULING, à assurer au produit final une électro-neutralité réelle obtenue, soit par déplacement du doublet de liaison, déplacement qui confère à la liaison un caractère ionique partiel équilibrant ainsi l'électronégativité du groupe donneur, soit par un transfert électronique supplémentaire qui a

lieu du métal vers l'atome et qui crée des liaisons multiples. Ce phénomène n'est pas toujours possible, ainsi les atomes N, O, des groupes tels que NH_3, H_2O, OH ne peuvent être accepteurs, leurs orbitales libres étant trop hautement énergétiques.

La distribution des groupes donneurs autour de l'atome métallique dépendra de la distribution angulaire des orbitales du métal suivant le résultat de leur hybridation qui peut donner une répartition tétraédrique, etc... Dans les deux premiers cas, l'orbitale d de l'avant dernière couche électronique du métal intervient, ce qui est la règle pour les métaux de transition. Les composés à structure carrée plane ou tétraédrique ou octaédrique ont donné lieu à de nombreux travaux. Ces composés sont obtenus avec les métaux dont le nombre de coordination est 4 ou 6. Dans le cas du Pu qui est octavalent, la structure la plus probable est dodécaédrique.

L'étude du spectre rotation-vibration de la molécule, obtenu par excitation infra-rouge a donné, en ce qui concerne les chélates formés par EDTA avec différents métaux, des résultats intéressants. On peut ainsi juger de la solidité du cycle chélate, du caractère covalent de la liaison métal-carboxyle, de la coordination métal-N. [9]

- l'action du cycle chélate sur la liaison C-H se manifeste par une augmentation de la fréquence de vibration. Plus le chélate est solide, plus la fréquence augmente ; ainsi il y a corrélation entre la constante de stabilité et la fréquence du pic correspondant aux CH_2,
- la région du spectre qui correspond à la "vibration symétrique" COO^- présente beaucoup de pics et le dépouillement en est peu profitable,
- la bande d'absorption du COO^- (vibration antisymétrique) est plus instructive. La fréquence augmente avec le caractère covalent de la liaison métal-COO. Ainsi avec le sodium et le potassium les liaisons sont essentiellement ioniques ; de même avec les métaux di et trivalents (. Ba, Si, Ca, Mg, Cu, Ni, Co, Mn, . Pb, Hg,

Cd, Zn, Bi, Ce, Al). Au contraire, pour les métaux suivants, V_{III} et $_{IV}$, Cr_{III}, Fe_{III}, Co_{III} la liaison est covalente. Il est intéressant de noter que la fréquence correspondant au groupement COO est supérieure dans le cas d'une liaison avec le sodium à celle obtenue quand le métal lié est le baryum ou le potassium. Il existerait donc une interaction en plus de la liaison ionique. L'aspect plus ou moins pointu du pic permet de connaître l'indice de coordination du métal lié.

D'autres informations peuvent encore être obtenues : il semble qu'il y ait au moins un COO^- qui ne soit pas lié dans Bi_{III} - EDTA. De même pour le Th_{IV} - EDTA, un COO reste non lié,

- la bande correspondant à la liaison C-N présente une modification si le métal permet la formation de liaison de coordination métal-N.

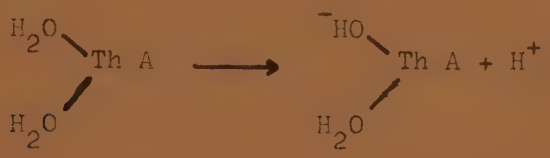
On doit à SCHWARZENBACH (10) dont les travaux font autorité en la matière, l'hypothèse suivante : la réaction de chélation est un processus graduel par lequel le cation métallique est d'abord lié par un atome d'un agent chélatant polyfonctionnel ; une rotation interne de la molécule permet à un atome liant voisin de créer un cycle grâce à un deuxième site de coordination sur l'ion central.

La combinaison d'un ion métallique avec un agent chélatant entraîne : [11] [12]

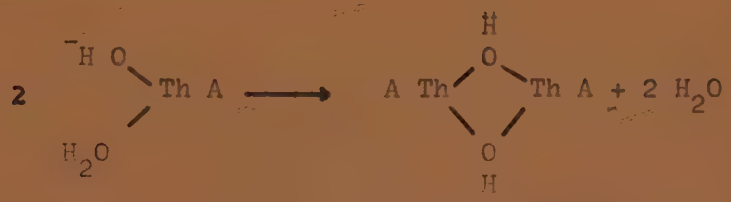
- la diminution du nombre de positions de coordination libres ou hydratées par lesquelles l'hydrolyse ou le pontage peuvent être réalisés.
- la diminution de l'acidité des molécules d'eau coordinées restantes ainsi que la diminution de la tendance de ces molécules à subir l'hydrolyse et l'olation. En effet, les charges positives du métal induisent dans la molécule d'eau une charge positive (extérieure) et augmentent la possibilité d'accepteur, caractéristique de l'acidité (Lewis).
- Quand l'agent chélatant a une suffisante affinité pour l'ion métallique, le système obtenu reste soluble à

pH élevé et alors il devient possible entre autre chose, d'étudier l'hydrolyse de l'ion sur une gamme de pH étandue , alors qu'en l'absence de chélatant, cette gamme d'étude est très limitée. Ainsi la molécule d'EDTA qui a 6 groupes donneurs est insuffisante pour coordiner complètement l'ion Th_{IV} qui garde deux positions ouvertes à l'hydrolyse et à l'olation.

A bas pH, on obtient $M(A)(H_2O)_2$; à haut pH, il y a dissociation des ions H à partir des molécules d'eau du chélate et formation de structure polynucléaire. [13]



diaquochélate mononucléaire,



dihydroxochélate binucléaire.

Cette réaction est empêchée si on substitue aux 2 H_2O du diaquochélate un composé chélatant à 2 positions liantes.

5°) - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES -

Dans la mesure où l'on accepte la définition de Lewis, le phénomène de coordination est un phénomène acido-basique dans lequel le complexant se comporte comme une base et le métal comme un acide. Ceci en première approximation, car la possibilité pour l'ion positif d'attirer les électrons est influencée par de nombreux facteurs.

Les complexes chélatés jouissent d'une très grande stabilité

vis à vis d'autres substances réactives et cette stabilité qui est déterminée expérimentalement permet d'établir une hiérarchisation des agents chélatants.

Soit, un système comprenant en solution aqueuse un cation M plusieurs fois accepteurs (n) et un anion une fois donneur A.

Nous pouvons écrire les équations suivantes :

$$M + A \rightleftharpoons MA \quad (1)$$

$$MA + A \rightleftharpoons MA_2 \quad (2)$$

$$\frac{MA_{(n-1)} + A \rightleftharpoons MA_n \quad (n)}{M + nA \rightleftharpoons MA_n}$$

Les constantes de stabilité partielles $K°_1$ ..... $K°_n$ étant

$$K_{MA} = \frac{[MA]}{[M][A]}$$

$$K_{MA_2} = \frac{[MA_2]}{[MA][A]}$$

$$K_{MA_n} = \frac{[MA_n]}{[MA_{(n-1)}][A]}$$

le constante totale $K°_n = \frac{[MA_n]}{[M][A^n]}$

Dans les équations précédentes l'eau n'est pas mise en cause car les modifications du nombre de molécules d'eau devant ce nombre sont négligeables. Ce qui n'est pas négligeable et de loin, c'est le déplacement des ions H^+ par le métal. Il y a dans la formation de complexe, compétition vis-à-vis de la molécule anionique, entre les H^+ précédemment liés et les atomes métalliques M^{n+} d'où modification de la concentration en H^+ libre.

$$M^{n+} + A H_m \rightleftharpoons M A^{n-m} + mH$$

$$K' = \frac{[M A^{(n-m)+}][H^+]^m}{[H_m A][M^{n+}]}$$

En multipliant les deux termes par A^{m-} nous voyons apparaître le produit $K_{MA}\ K_a$, K_a étant la constante de dissociation de l'acide.

$$K' = \frac{[M A^{(n-m)+}][H^+]^m [A^{m-}]}{[M^{n+}][A^{m-}][M A_n]} = K_{MA}\ K_a$$

d'où K_{MA} peut être calculé connaissant K' et K_a expérimentalement.

A partir de la définition suivante : $\bar{n}$ étant le nombre moyen de molécules liantes liées par mole de métal, on peut introduire les valeurs des constantes K dans l'expression de :

$$\bar{n} = \frac{M A + 2 MA_2 + 3 MA_3 \ldots\ldots + n MA_n}{M + MA + MA_2 \ldots\ldots + MA_n}$$

$$\bar{n} = \frac{K_{MA} A + 2K_{MA} K_{MA_2} A^2 + 3 K_{MA} K_{MA_2} K_{MA_3} A^3 + \ldots}{1 + K_{MA} A + K_{MA} K_{MA_2} A^2 + \ldots}$$

Cette équation est appelée fonction de formation de Bjenum.

Dans le cas de molécules polydentées, la solution de cette équation est facilitée. Pour EDTA elle est très simple,

L'équation générale $\bar{n} = \frac{A_t - A}{M_t}$ valable dans tous les cas dans laquelle A_t = concentration du coordinant,

M_t = concentration du métal.

est exploitable lorsque, expérimentalement, on peut déterminer (par exemple par les méthodes d'extraction par solvants) A non lié. M_t et A_t étant connus.

SCHWARZENBACH a fait ce calcul (10) dans le cas simple Ca + acide aminopolycarboxylique AH_2. Le Ca étant en très large excès, il admet que la concentration en Ca^{2+} reste constante et peu différente de M_t.

Expérimentalement il détermine plusieurs points correspondant à des quantités différentes d'acide, mesure la valeur du pH et trace la courbe du pH en fonction de a, a étant la valeur du rapport :

$$\frac{\text{nombre de molécules de base}}{\text{nombre de molécules de A } (A_t)}$$

Dans d'autres cas, il est plus aisé de tracer la courbe pA en fonction de $\bar{n}$, pA étant le log négatif de A^{x-}. Mathématiquement, il est en effet possible d'exprimer A^{x-} en fonction de a, H^+, A_t et des constantes de dissociation des fonctions acides ; et à partir de cette expression, par approximation, on détermine la constante de stabilité du complexe.

Expérimentalement, à côté des méthodes potentiométriques, d'autres techniques sont couramment employées :

- <u>échange d'ions</u> :

  on détermine le coëfficient de partition du métal entre les deux phases solide-liquide, l'une des phases correspondant au métal libre, l'autre au chélate.

- <u>spectrophotométrie</u> :

  on suit la variation du coëfficient d'extinction moléculaire des différentes espèces.

- <u>extractions par solvants</u> :

  on détermine le coëfficient de partition du métal entre les deux phases liquide-liquide.

- <u>solubilité</u> :

  on détermine les variations de solubilité d'une espèce donnée dans un solvant.

Une indication de polymérisation ou d'olation du chélate métallique étudié est l'observation d'une différence de pH dans la

région tampon de la courbe de titration en fonction de la concentration du chélateur, différence à partir de laquelle on peut calculer les constantes de dimérisation, etc...

La stabilité des chélates est influencée par :

1°- la structure du chélateur.

- la stabilité décroit rapidement quand la taille du cycle chélate augmente. Des considérations relatives à l'entropie montrent que la stabilité est maximum pour les cycles saturés à 5 chaînons et non saturés à 6 chaînons.

- SCHWARZENBACH et ACKERMAN montrent qu'une stabilisation stérique augmente la stabilité; ainsi le 1-2 cyclohexane diamine tétracétique forme avec le Ca un chélate plus stable que EDTA. Mais ceci dépend évidemment de la taille de l'ion métallique.

- plusieurs cycles formés entre la mème molécule et le métal augmentent aussi la stabilité; deux positions liantes donnent un cycle, donc un chélate, dont la stabilité est moitié de celle du chélate à 2 cycles (3 positions liantes) et le tiers de celle du chélate à 3 cycles (4 positions liantes).

- l'orientation relative des molécules d'eau autour de la molécule intervient.

2°- la nature des groupes donneurs de la molécule organique.

- la nature de l'atome donneur a sur la stabilité du composé formé, une influence comparable, que celui-ci soit un chélate ou un complexe.

- les trois atomes donneurs les plus étudiés sont l'azote, l'oxygène, le soufre. L'azote et l'oxygène peuvent être considérés comme équivalents quant à leur efficacité vis à vis des ions métalliques. Par contre, leur tendance à la coordination diminue en raison inverse des substitutions sur le groupe donneur.

3°- la nature de l'ion métallique.

- généralement la stabilité augmente quand Z augmente en particulier dans les cas des métaux de transition de la première série.

- l'électronégativité de l'ion métallique intervient (Haissinski) (14).

- pour chiffrer cette influence une relation entre la stabilité du chélate et le produit : potentiel d'ionisation x charge ionique, a été proposée.

La compétition entre deux éléments métalliques vis à vis de la même molécule de chélate in vivo est à la base de l'action pharmacologique de ces substances. In vitro en solution, deux métaux M et N et un ligand Y, en première approximation sont reliés par la relation,

$$MY + N \rightleftharpoons NY + M$$

Le calcul montre que la réaction est complète en faveur de l'élément dont le chélate a la plus grande constante de stabilité, quand les constantes de stabilité des deux chélates diffèrent de 5 à 6 unités log K.

En conclusion, le phénomène de chélation entre un atome métallique et une molécule organique se traduit par l'établissement de deux liaisons entre deux atomes de la molécule et le métal et fermeture d'un cycle ; ces liaisons sont de nature covalente et au niveau des atomes du cycle apparaissent une ou deux liaisons délocalisées sources d'une énergie de résonance qui renforce la stabilité des liaisons.

En présence d'eau, les molécules douées de propriétés chélatrices modifient considérablement le comportement des ions métalliques et en particulier du plutonium. Ce métal forme avec les molécules d'eau des hydrates insolubles dont les formes intermédiaires sont colloïdales.

Les chélateurs empêchent ces réactions.

L'action des chélateurs est influencée par l'état d'hydratation du toxique, alors que le chélate du plutonium déjà formé ne subit pas l'hydrolyse même à pH élevé, la resolubilisation par le DTPA par exemple, de l'hydroxyde de plutonium, est longue et incomplète. En présence de molécules liées ou pouvant se lier aux

atomes métalliques telles que protéines, ions citrate ou autres, un phénomène de compétition apparait qui aboutit au déplacement de ces molécules et à la formation du chélate.

Tous les chélateurs n'ont pas la même efficacité parce que tous n'ont pas le même nombre de doublets électroniques à offrir à l'atome métallique. Efficacité et nombre de coordinence varient dans le même sens.

Le nombre de covalence du métal intervient aussi, le plutonium est octavalent et le complexe formé par l'acide diéthylènetriaminopentacétique possédant lui-même 8 atomes donneurs a vraisemblablement une structure dodécaédrique; les produits obtenus par chélation sont caractérisés par une très forte stabilité dont la détermination permet de prévoir l'efficacité thérapeutique, puisque leur formation a lieu par compétition au détriment des complexes préexistants in vivo.

Si l'étude du mécanisme de ces réactions compétitives est importante, elle dépasse, en fait, le cadre de notre travail dans lequel nous nous sommes limités à en apprécier le résultat en mesurant, in vivo, pour plusieurs substances chélatrices, l'accroissement d'élimination urinaire de plutonium.

- CHAPITRE II - UTILISATION THERAPEUTIQUE DES CHELATEURS DANS L'INTOXICATION PAR LE PLUTONIUM -

De nombreux chercheurs ont tenté d'utiliser, dans le passé, les agents favorisant la formation de complexes pour le traitement des intoxications chimiques par certains métaux.

C'est depuis 1940 que cette utilisation a été envisagée systématiquement dans le traitement des empoisonnements par les métaux lourds. Pendant la deuxième guerre mondiale, les Anglais mirent au point le 2,3-dimercaptopropanol ou BAL (British Anti-Lewisite) pour lutter contre les effets nocifs des arsines (15-16).

Le BAL fut ensuite utilisé avec succès pour le traitement des empoisonnements par les métaux lourds, comme le mercure et le bismuth.

Vers cette époque, Kety (17) tenta de traiter l'empoisonnement par le plomb en administrant du citrate de sodium, en s'appuyant sur le fait que le plomb forme avec l'acide citrique un ion complexe assez fort dont il mesura la stabilité (18).

Il matérialisa ainsi l'idée d'utiliser le phénomène de la formation d'un complexe "pour résoudre le problème de la dissolution des composés insolubles formés par le plomb dans les tissus de l'organisme, en augmentant la quantité de plomb éliminable, sans accroître la concentration de l'ion plomb dans le sang circulant" (18).

L'implantation à Chicago des premières installations d'application de l'énergie nucléaire à des fins industrielles amenèrent, dès 1945, Painter et coll. (19) à entreprendre les premiers essais méthodiques d'élimination des radioisotopes de l'organisme au moyen d'agents complexants. Ils administrèrent du citrate de sodium par voies buccale et parentérale pour essayer d'accélérer chez des chiens l'élimination du plutonium fixé, mais l'emploi du citrate de sodium comme agent "complexant" présente certains inconvénients : son métabolisme est rapide et, de plus, dans les conditions physiologiques, il ne lie pas assez énergiquement les ions métalliques. Il était, dès lors, tout naturel d'essayer le BAL dans le traitement des empoisonnements

par des éléments radioactifs. Kawin et Copp (20) étudièrent l'influence du BAL sur l'élimination du plutonium chez les rats mais sans résultat.

En 1949, Bersworth proposa d'employer l'EDTA pour éliminer les métaux de l'organisme (21). En effet, dès 1942, des expériences biologiques avaient été faites avec l'EDTA et avaient montré la propriété qu'il possède d'empêcher la coagulation du sang in vitro en formant des complexes avec le calcium (22). Cette découverte fut complétée ultérieurement par la constatation que l'EDTA était également susceptible d'entraîner une augmentation notable de l'excrétion de divers métaux. Il s'est révélé notamment efficace dans le traitement de l'intoxication par le plomb. Il importe à ce sujet, de mentionner les travaux entrepris ultérieurement en France par Truhaut, Boudène et Albahary qui ont souligné l'intérêt que présente la mobilisation du plomb par le Ca-EDTA non seulement dans un but thérapeutique (23) mais aussi diagnostique (24) (25) pour apporter aux cliniciens la preuve de l'imprégnation de l'organisme par ce métal.

En 1951, Foreman et Hamilton (26) ont publié les résultats encourageants obtenus par l'emploi du Ca-EDTA dans le cas de l'intoxication par le plutonium.

A partir de cette époque de nombreux autres travaux ont été effectués dans cette voie de recherche et ont été résumés en 1955 par Schubert à l'occasion de la Conférence internationale sur l'utilisation de l'Energie Atomique à des fins pacifiques.

Mentionnons à ce sujet que, bien qu'il eut été tentant d'utiliser le chélateur sous sa seule forme de sel sodique puisque les traitements décalcifiants avaient été envisagés par certains auteurs (28-29) dans le but d'entraîner l'élimination du plutonium du squelette à la faveur de la fuite du calcium du tissu osseux, l'EDTA sodique s'est révélé d'une

toxicité telle que seul son dérivé calcique a pu être employé comme antidote (30).

En 1958, Schubert signale pour la première fois l'utilisation d'un nouvel agent chélateur dans le traitement de l'intoxication par le plutonium : l'acide diéthylènetriamino-pentacétique (DTPA). Ultérieurement, d'autres molécules voisines de la même série dérivée de l'acide polyaminopolycarboxylique ont été synthétisées et leur emploi également envisagé.

Trés récemment une molécule de structure chimique différente mais dont le mécanisme d'action peut également être expliqué par formation de chélate est apparue dans l'arsenal thérapeutique, c'est la desferrioxamine.

Avant d'envisager les modalités de l'utilisation pharmacologique de ces chélateurs dans l'intoxication par le 239 Pu, il importe de rappeler succintement la nature des désordres qui sont entraînés par sa fixation dans un organisme animal.

Précisons d'emblée que ces désordres sont essentiellement dus à son caractère d'élément radioactif dont la désintégration est à l'origine de l'émission d'un rayon α fortement ionisant, beaucoup plus qu'à sa nature chimique qui ne fait que conditionner son accumulation au niveau du tissu osseux. La preuve en a pu être faite par substitution au 239 Pu de son isotope 238 dont la période physique étant mille fois plus courte émet, à poids égal, une énergie d'autant plus intense, ce qui se traduit par une diminution correspondante du temps de survie des animaux intoxiqués (31).

Rappelons que la limite maximum admise pour la quantité totale fixée dans l'organisme humain est 0,04 μCi, soit 6 μg de 239 Pu (32). La toxicité aigüe se traduit par un raccourcissement extrême de la durée de vie, l'issue fatale étant la conclusion d'un syndrome radiologique classique : troubles intestinaux, cachexie, effondrement du nombre des leucocytes circulants, atteinte médullaire irréversible ;

la toxicité chronique est caractérisée par une atteinte hématologique et l'apparition de tumeurs au niveau des tissus osseux et hépatique . Il est donc capital de connaître le retentissement d'une thérapeutique antidote sur ces évolutions tragiques. L'importance de cette atteinte étant proportionnelle à la quantité de rayonnement émis , il importe, compte tenu de sa longue période physique et de la solidité de sa fixation au niveau du tissu osseux, de procéder à son élimination de l'organisme aussitôt après la contamination et avec le maximum d'efficacité.

Dans ce but, il est capital de pouvoir disposer d'un bon antidote et de connaître les différentes possibilités d'action ; à cet égard, nous envisagerons successivement les incidences du traitement par les chélateurs sur les principaux effets toxiques.

1°) AUGMENTATION DE L'ELIMINATION URINAIRE ET FECALE -

L'intoxication de l'animal préalablement à l'étude de l'élimination urinaire et fécale sous l'influence d'un chélateur pose, sur les plans théoriques et pratiques, un certain nombre de problèmes. En effet, l'étude de détoxication est réalisée le plus souvent après injection intraveineuse ou intrapéritonéale du toxique sous forme soluble et, classiquement, les solutions injectées doivent être isotoniques et neutres ; or, le plutonium, s'il n'est pas solidement complexé, donne pour les valeurs de pH supérieures à 1,5, en milieu nitrique ou chlorhydrique, des formes hydratées qui sont des formes polymères colloïdales (33). L'injection de plutonium sous forme colloïdale présente de graves inconvénients dont le premier est l'imprécision sur la quantité injectée ; le devenir dans l'organisme (34) est évidemment affecté par la taille des micelles et leur nombre.

Ce fait a amené les expérimentateurs à injecter des solutions pour lesquelles ils déterminent par ultrafiltration le pourcentage de plutonium ionique et colloïdal (35).

Pour la plupart des auteurs, 50% de plutonium ultrafiltrable, ou 50% de forme colloïdale correspondent à une injection de plutonium polymérique, 92% de plutonium ultrafiltrable correspondent à une injection de plutonium monomérique.

Le taux de plutonium plasmatique, l'élimination urinaire spontanée, la rapidité du piégeage par le foie, le taux de fixation hépatique ou osseuse varient évidemment avec les caractéristiques de la solution injectée.

Smith et Ballou, travaillant à Handford, ont réalisé sur des rats une série d'expériences pour laquelle ils ont intoxiqué les animaux par voie intraveineuse avec une solution de citrate de plutonium à pH=5. Ils ont commencé leurs travaux (36) par une étude de la détoxication tardive du plutonium fixé, 30 jours après la contamination, par l'EDTA et le DTPA ; ils ont observé une importante diminution du dépôt osseux et hépatique et ont noté que le DTPA avait une efficacité inférieure à celle de l'EDTA au niveau des tissus mous. Ensuite (37) ils ont établi que le traitement immédiat, une heure après la contamination, est deux fois plus actif que trois heures et demie plus tard.

Dans cette même étude, ils ont montré que la différence de dose entre 500 et 2500 mg/Kg n'entraîne aucune modification de la fixation du plutonium. Ces doses d'antidote sont énormes puisque 500 mg/Kg correspond à plus de 30 fois la dose thérapeutique quotidienne. Ils n'ont constaté aucun effet toxique du chélateur jusqu'à 1500 mg/Kg.

Dans le rapport suivant, les mêmes auteurs (38) déterminent que la dose optimale pour prévenir la fixation hépatique, le traitement étant institué une heure après la contamination, est $0,5 \times 10^{-3}$ M/Kg, c'est-à-dire environ 250 mg/Kg de DTPA sous forme monocalcique sodique.

Pour prévenir la fixation osseuse, la dose optimale est trois fois plus grande. La voie d'administration, intraveineuse, intrapéritonéale, intramusculaire, sous-cutanée du chélateur est indifférente, mais par contre, per os le produit est inefficace.

En 1959 (39), ces auteurs reprennent l'étude de l'administration par voie buccale, mais constatent qu'ils doivent employer de très fortes doses pour un piètre résultat.

En 1960 (40), Smith et Ballou testent l'efficacité du DTPA en fonction du temps de survie des rats. Quand la dose de plutonium injectée est très forte, 200 µCi/Kg, ils n'enregistrent aucun effet, les animaux meurent en quelques jours ; quand la dose injectée est 4 fois plus faible, la survie est très sensiblement augmentée, alors que sans traitement tous les rats sont morts en trois mois, dans ce cas 6 sur 7 vivent au bout de 9 mois.

Abandonnant provisoirement le travail sur les rats, les mêmes auteurs intoxiquent des "porcs miniatures" (41) et attendent 30 jours avant de mettre en oeuvre le traitement qui dure 5 jours (en tout 9 g de DTPA). Les animaux éliminent pendant cette période 10 à 20% du plutonium fixé, l'élimination fécale est multipliée par 1.000.

Si l'injection d'antidote a lieu une heure après la contamination par le plutonium sur les mêmes animaux (42), l'élimination de plutonium est de 90%, principalement aux dépens du foie. Dans un article plus général, tous ces résultats sont repris (43)

Puis Ballou (44) compare l'efficacité d'un nouveau chélateur, le TTHA à celle du DTPA. L'administration intrapéritonéale précoce des drogues montre que le le TTHA détoxique mieux le tissu osseux et moins bien le foie. Mais si, 18 jours séparent le traitement de la contamination, les résultats sont les mêmes. Par contre, de faibles doses de TTHA ingérées ont une efficacité réelle, c'est la seule substance qui accélère ainsi l'élimination de plutonium.

Le point noir est sa grande toxicité propre : la DL50 semble être 7,5 mM/Kg.

L'efficacité per os d'un chélateur est évidemment très intéressante en vue de son utilisation plus facile, seule ou en

association, dans un traitement prolongé. De plus c'est un moyen d'étude de l'absorption intestinale du toxique et du chélateur. C'est à une étude de cet ordre que Ballou et Palotay se sont attachés (45), ils perfusent l'intestin à différents niveaux et en concluent que les chélateurs sont absorbés par le jéjunum et l'iléon. D'une étude de la toxicité du TTHA, ils déduisent que la dose thérapeutique humaine par voie orale est 130g.

En 1963, Smith (46) signale une modification des résultats obtenus en fonction de l'anesthésie à l'uréthane.

Pendant le même temps, dans un autre grand centre américain, l'Argonne National Laboratory, un groupe de chercheurs parmi lesquels J. Schubert, M.W. Rosenthal, A. Lindenbaum, J.F. Markley, poursuit des études sur le même sujet (47).

Ils travaillent surtout sur la souris et s'attachent à comparer les effets du plutonium suivant qu'il est injecté sous forme ionique ou colloïdale. Nous verrons plus loin qu'ils suivent aussi le développement des tumeurs dans ces conditions expérimentales.

En 1959 (48) ils publient les résultats comparatifs de l'élimination urinaire et fécale sous l'influence de l'EDTA et de 2 nouveaux produits le BAETA et le DTPA ; ils commencent le traitement le sixième jour, et sacrifient les animaux le 27ème.

La quantité de chélateur injecté est de $0,2 \times 10^{-3}$ M/Kg soit 400 mg/Kg de DTPA-Ca ; ils observent une élimination provoquée par ces deux nouvelles drogues égale à neuf fois celle des témoins, alors que l'EDTA ne la majore que de trois fois, cette différence se fait aux dépens du plutonium hépatique car les trois molécules sont équivalentes vis à vis du plutonium du squelette.

Dans une autre expérimentation (49 & 50) le traitement a une efficacité très différente au niveau du foie, suivant la forme physico-chimique du plutonium injecté, toutes conditions égales par ailleurs : la fixation hépatique est ramenée à 1%

de la dose injectée dans le cas du plutonium monomérique, à 28% dans le cas du plutonium polymérique.

A partir de la publication suivante, les mêmes auteurs étudient l'augmentation de l'ultrafiltrabilité du plutonium sous l'influence du DTPA suivant la forme injectée. Ils détaillent la technique d'étude, donnent les résultats obtenus au niveau du sang in vitro et in vivo (51), au niveau du foie et du squelette en fonction du temps de survie ; le traitement étant commencé au troisième jour, le plutonium reste fixé au niveau du foie. Au niveau du plasma, si le traitement est commencé $\frac{1}{2}$ heure après l'injection de plutonium, le DTPA augmente de quatre à dix fois l'ultrafiltrabilité du plutonium monomérique (52).

Dans le même ordre d'idée, une méthode d'étude de la moelle osseuse est décrite (53). Ces méthodes et les résultats obtenus sont repris à l'occasion d'un colloque (54 & 55).

Deux ans plus tard, les mêmes auteurs décrivent l'effet du DTPA sur l'élimination du plutonium à partir de l'os et du foie, le toxique ayant été injecté sous forme monomérique et le traitement, 500 mg/Kg/jour administré du 30° au 48° jour, puis du 80° au 98° jour après l'intoxication (56).

Les taux du plutonium fixé sont les suivants, en fonction du temps :

	3° jour	30° jour	48° jour de traitement	98° jour
foie.....	36%	5%	# 0%	peu de
os.....	26%	33%	20%	différence.

Le premier traitement élimine tout le plutonium mobilisable, mais les auteurs se référant à des travaux sur le chien indiquent que l'évolution du tissu osseux est stoppée et qu'au 30° jour, le plutonium ionique a déjà produit des dégâts qui ne laissent au traitement qu'une valeur très limitée.

Dans le même rapport (57), nous trouvons une autre série de résultats comparant la rétention du plutonium ionique ou colloïdal par la moelle osseuse chez le rat ou la souris, au niveau du fémur et du tibia, après traitement au DTPA.

Les auteurs décrivent la méthode employée pour séparer le plutonium fixé sur l'os dur et dans la moelle osseuse.

Le DTPA agit sur le plutonium extracellulaire, ce qui justifie son efficacité plus grande vis à vis du plutonium monomérique. L'injection de plutonium colloïdal entraîne un plus grand pourcentage de forme intracellulaire moins accessible d'où la recherche d'un chélateur qui pénètre mieux : l'ester pentaethyle du DTPA semble posséder cette propriété (58).

Chaque produit a une efficacité équivalente sur le foie d'animaux ayant reçu une injection intraveineuse de plutonium à 16% ultrafiltrable. L'association du DTPA et de son ester augmente de 28 à 59% de la dose injectée la quantité de Pu dont le foie est privé. Tous ces résultats sont repris dans un article de la revue "International Journal of Radiation Biology (59).

Plusieurs auteurs russes étudient eux aussi l'efficacité comparée de plusieurs substances voisines (60) administrées dix minutes après le toxique lui-même sous forme ionique. Parmi eux, Belyaev publie (61) les résultats obtenus grâce à 10, 40 ou 100 mg par rat d'acide diaminocyclohexanetétracétique (CDTA).

La diminution du plutonium hépatique est fonction de la dose de chélateur ; elle est 50% de la quantité fixée par les témoins ; pour 100 mg, celle du plutonium osseux diminue de 20% ; 40 mg de CDTA entraînent une diminution au niveau du squelette.

Ayant eu l'occasion d'effectuer de nombreuses recherches sur la détoxication sur le cérium, Catsch a pu comparer entre elles de nombreuses drogues et, dans des articles généraux, il a repris certaines des conclusions précédentes en ce qui concerne le plutonium (62 & 63).

2°) INCIDENCE DU TRAITEMENT SUR LE DEVELOPPEMENT DES TUMEURS -

Le groupe de chercheurs de l'Argonne National Laboratory a étudié depuis 1958 cet aspect du traitement, et a publié les résultats dans les compte-rendus périodiques du laboratoire (64 à 67).

Les souris reçoivent par voie intraveineuse 2,6 μCi/Kg

de plutonium sous forme mono ou polymérique, et trois jours après 500 mg/Kg par jour pendant 12 jours au maximum de DTPA.

25% des souris meurent dans la première année, elles présentent, traitées ou non, des tumeurs du système réticulo-endothélial. Mais le DTPA réduit de 50% la fréquence des tumeurs osseuses. Le traitement a, sur la survie, un effet parallèle à l'augmentation du plutonium éliminé. Le pourcentage de souris qui vivent plus de 400 jours passe de 54 pour les témoins, à 65 pour les animaux traités si le plutonium injecté est polymérique ; et de 28 à 65 si le plutonium est monomérique. La survie minimum passe de 269 jours à 325 jours dans le premier cas, et de 153 à 266 dans le deuxième.

La fréquence des tumeurs est aussi plus grande dans le cas du plutonium monomérique : elle passe de 56% parmi les témoins à 25% parmi les animaux traités dans le cas du plutonium polymérique ; de 81 à 67% dans l'autre. Au bout de 500 jours 84% de souris non intoxiquées vivent et aucun animal non traité n'est vivant.

Pour la même dose de chélateur administré à la suite de l'intoxication par le plutonium monomérique, 31% des animaux survivent si le traitement est commencé après trois jours, et 72% si le traitement est commencé après une heure.

Quant à la fréquence des tumeurs, elle passé de 74 à 40% au bout de 500 jours.

Au bout de 650 jours, elle est de 75% dans le premier cas mais de 61% dans le second.

La précocité du traitement diminue la fréquence des tumeurs et retarde leur apparition en provoquant une élimination du plutonium fixé dans le squelette.

3°) INCIDENCE DU TRAITEMENT SUR LES CONTAMINATIONS PAR VOIE RESPIRATOIRE -

La contamination par voie respiratoire est, dans le cas du plutonium, un problème d'autant plus angoissant que les essais pharmacologiques se sont soldés par des échecs. Le plutonium

inhalé, en cas d'accident, est sous forme soluble, ou sous forme d'oxyde insoluble. Dans le cas de poussières d'oxyde de diamètre moyen voisin de 1 µ ,99% de la quantité retenue par l'organisme l'est par les poumons.

Un traitement à base de DTPA, en aérosols, pendant une heure par jour pendant 15 jours ne change rien. L'expérience a été menée par Bair et ses coll. (68 & 69) qui sont les seuls à avoir provoqué l'empoussièrage d'animaux par l'oxyde de plutonium.

Ils notent un très faible enrichissement des organes tels que rate, surrénales, reins, et surtout ganglions bronchiques et autres.

4°) INCIDENCE DU TRAITEMENT SUR LES CONTAMINATIONS TRANSCUTANEES -

La pénétration du plutonium au niveau d'une plaie est aussi une éventualité redoutable, aussi la décontamination de la peau et des plaies a été soigneusement étudiée.

Les travaux expérimentaux d'une équipe de Handford (70) permettent de suivre les réactions locales et cutanées, chez le porc à la suite d'injections intradermiques de nitrate de plutonium de faible volume et de forte acidité (0,2N).

A la fin de la première semaine, 12% de la dose injectée ont migré vers les ganglions lymphatiques. Même si le traitement par le DTPA est institué aussitôt après la contamination, il n'augmente pas le transfert du plutonium, par contre il majore l'excrétion urinaire et diminue la fixation hépatique et osseuse.

Les auteurs concluent à la nécessité d'une excision chirurgicale qui reste le moyen, le plus efficace, de parer à la migration et à la fixation du toxique, associée au traitement interne par chélateur.

Earl (71) cite les travaux de Finkel, Liska et Brues, d'après lesquels il y a une probabilité notable de développement des tumeurs au point d'injection dès 0,06 µCi de plutonium.

Il arrive à la même conclusion que précédemment : l'excision chirurgicale est seule efficace dans le cas de plaies contaminées avec du plutonium.

Foreman (71 bis) à la lumière de quelques cas, schématise cette marche à suivre pour le traitement médical des blessures ayant subi une contamination radioactive : décontamination locale puis excision et traitement interne à base de chélateur.

5°) TRAITEMENT DES CONTAMINATIONS HUMAINES -

Entre 1956 et 1963, d'après Selby (72), plus de 100 personnes ont été contaminées par le plutonium parmi lesquelles la presque totalité a présenté des plaies qui ont justifié une excision dans la moitié des cas.

En 1960, Norwood décrit six cas de contaminations respiratoires (73). Le traitement a été mis en oeuvre très rapidement et prolongé plusieurs années. L'auteur note une augmentation de l'excrétion urinaire due à l'administration par voie veineuse de 1g de DTPA-Ca par jour, trois à cinq jours par semaine, et souligne l'absence de toxicité du chélateur.

En 1963, au symposium d'Heidelberg, Jeanmaire, Patti et Audren (74) ont exposé les résultats des explorations tant locales qu'urinaires et fécales effectuées sur un agent ayant subi une blessure à la main ; le blessé a été traité par injections intraveineuses de DTPA-Ca.

Trois autres cas de contaminations humaines pour lesquelles un traitement a été mis en oeuvre, ont été détaillés (75-76) l'une par aspersion de solution de nitrate, l'autre par inhalation.

Dans le premier cas le DTPA s'est montré efficace, dans l'autre non. Le troisième cas, une plaie à l'index a donné lieu à une excision chirurgicale locale et à un traitement interne et prolongé.

L'étude suivante (77) met en relief l'efficacité réduite d'un traitement très tardif. En 1957, deux personnes subissent une contamination générale du corps avec plaies et

inhalation ; un traitement immédiat à l'EDTA est institué (78), puis sept ans après l'exposition, un traitement au DTPA est administré pendant quelques semaines. Dans le premier cas, à raison de une fois 1g en perfusion intraveineuse dans 250 ml de chlorure de sodium isotonique par semaine. La deuxième personne a été soumise à un traitement discontinu, et a reçu 24 injections en 17 semaines ; la quantité de plutonium fixé avait été évaluée à 3,5 et 8,6 fois la quantité maximum admise de plutonium retenu par l'organisme ; les dosages de plutonium éliminé ont montré une excrétion égale respectivement à 1,9% du plutonium fixé et à 1,5%.

Plus récemment un rapport américain (79) détaille un des accidents survenus à l'usine de fabrication de pièces de plutonium nécessaires aux armes nucléaires ; il s'agit d'une contamination par plaies associée aux contaminations externe et pulmonaire. Le traitement institué a consisté en perfusions de Ca-DTPA : 2 grammes le premier jour 90 minutes après l'accident, puis 1 gramme par jour pendant 18 jours, puis 1 gramme par jour, trois fois par semaine ; ensuite le traitement a été plus intermittent, et la dose totale administrée a atteint 60 grammes.

Norwood, qui depuis de longues années suit au très important Centre de Handford les accidents humains accompagnés de contaminations, a fait en 1963 à Vienne, au cours de la Réunion Annuelle organisée par l'Agence Internationale sur l'Energie Atomique (I.A.E.A), le point de la question du traitement des intoxications humaines par le plutonium (80).

- CHAPITRE III - RECHERCHES SUR L'EVENTUELLE TOXICITE DES CHELATEURS -

La toxicité des chélateurs peut être rattachée à deux causes principales : leur individualité chimique propre, et surtout la propriété générale de complexer certains ions métalliques qui justifie d'ailleurs leur emploi.

Envisageons tout d'abord cette deuxième cause pour l'éliminer ; elle se rapporte essentiellement à la chélation massive du calcium lorsque la molécule est injectée sous forme acide ou sodique, la constante de stabilité du sel calcique étant plus grande que celle du sel sodique. Le calcium est alors rendu physiologiquement inactif et des doses faibles de chélateurs entraînent la mort rapide des animaux accompagnée de crises tétaniques alors que le taux de calcium plasmatique déterminé par spectrophotométrie de flamme reste normal.

Ceci ne se produit pas quand le produit injecté est le sel calcique qui est le seul employé en thérapeutique. Notre étude expérimentale de la toxicité du D.T.P.A. ne portera donc que sur le sel monocalcique.

En ce qui concerne la toxicité propre de ces différentes molécules, de nombreux travaux ont eu pour but de fixer les doses thérapeutiques de l'EDTA et ont permis de mettre en évidence les lésions rénales qu'entraîne l'emploi de fortes doses. Parmi ceux-ci, citons les études de Foreman (82 & 83), de Spencer (84) sur l'homme, de Bauer et coll. (85)

La toxicité du DTPA est plus grande que celle de l'EDTA. La DL50, comme nous le verrons plus loin, en injection intrapéritonéale chez la souris, est de 5 grammes par kilogramme. Catsch (86) montre qu'il existe des différences du taux de mortalité suivant l'âge et le poids des animaux ; il injecte le produit par voie intrapéritonéale à des rats à raison de 2,5 mM/Kg, c'est-à-dire 1,25 g/Kg. Les auteurs s'accordent pour penser qu'au-dessous de 0,5 mM/Kg il n'y a pas d'effets toxiques irréversibles, pas de lésions histologiques des reins même si le traitement est prolongé jusqu'à quatre semaines.

A 1 mM/Kg par jour, les animaux présentent quelques signes toxiques.

Foreman (87) a étudié le métabolisme du DTPA marqué au ^{14}C. Il retrouve 90% de la radioactivité dans les urines des premières 24 heures et mesure la $\frac{1}{2}$ vie au niveau du sang, il la trouve égale à 35 minutes.

Toutefois, une partie de la dose serait éliminée avec une période d'un jour.

De même que pour l'EDTA, il n'y a pas de pénétration dans les hématies et une très faible absorption intestinale par voie orale.

Le même auteur (88) a décrit la néphrotoxicité du DTPA. Les lésions sont, dit-il, différentes de celles observées chez des animaux ayant reçu de l'EDTA (89); l'atteinte de la partie proximale par l'EDTA de traduit par une distention intracellulaire due à l'eau qui simule des vacuoles ; ceci peut aller jusqu'à l'éclatement de la cellule. Le DTPA produit chez tous les animaux, et même à très faible dose, des lésions d'aspect granulo-hyalin accompagnées d'amas amorphes colorables par l'hématoxyline. Si la dose est au moins égale à 500 mG/Kg apparait la vacuolisation et la rupture des membranes.

Catsch (86) admet qu'il existe une proportionnalité entre la dose d'une part, et le nombre de tubes rénaux endommagés, la gravité des lésions d'autre part. Il apparait une vacuolisation hydropique des cellules des tubes contournés proximaux, avec quelquefois rupture de la membrane.

Le glomérule est gonflé. Puis aux doses fortes, les modifications dégénératives s'étendent aux portions distales, on trouve beaucoup de cylindres hyalins.

Les lésions sont plus modestes et réversibles si l'administration du produit est discontinue. L'auteur note alors la présence d'amas intracellulaires denses, colorables en rouge brique par le trichrome.

Le métabolisme du DTPA marqué au ^{14}C a été étudié chez l'homme par Stevens et coll. (90), soit par injections intraveineuses de 10^{-} mg de DTPA, [de 15 à 20 µCi d'activité à quatre patients] soit par administration per os, de 50 mg de DTPA à sept patients. La mesure de l'activité a été faite sur des prélèvements de sang à 1, 4, 8 et 24 heures dans le premier cas, et 1, 2, 4, 8, 24, 48 et 72 heures dans le deuxième. 30 à 40% de la dose injectée par voie veineuse sont excrétés en deux heures ; 90 à 100% en 24 heures. Dans le sang, il ne reste que 10% au bout d'une heure, et aucune activité détectable à deux heures.

Par voie buccale, le transit est réalisé en 2 à 5 jours pour 95 à 100% de la drogue, donc il n'y a aucune absorption intestinale.

Tuchmann-Duplessis et Mercier-Parot ont recherché une éventuelle action tératogène des chélateurs (91) ; leurs travaux mettent en évidence des malformations foetales chez 9% des foetus vivants, mais les auteurs ne précisent pas si l'EDTA est injecté sous forme de sel calcique.

- CONCLUSIONS -

Les conclusions qui peuvent être dégagées des trois chapitres précédents sont les suivantes :

L'efficacité des chélateurs sur l'élimination provoquée du plutonium dépend de plusieurs facteurs :

- la molécule elle-même :

  Le DTPA est plus actif que l'EDTA.

- son site d'action :

  Le DTPA agit sur le plutonium extracellulaire. Sous forme estérifiée, il a une plus grande faculté de pénétration de la membrane et agit sur le plutonium intracellulaire.

- le mode d'introduction :

A l'exception du TTHA, les chélateurs sont sans action par voie orale. Leur efficacité n'est pas influencée par les modalités d'introduction parentérale (sous-cutanée, intramusculaire, intrapéritonéale, intraveineuse) ils diffusent très vite.

- la dose :

La dose toxique est égale ou supérieure à 1.500 mg/Kg. La dose optima serait de 500 mg/Kg mais pour éviter les effets toxiques possibles, la dose thérapeutique humaine habituelle est de 1 à 2 g. par jour, c'est-à-dire de l'ordre de 20 mg/Kg.

- la rapidité du traitement à la suite de la pénétration du toxique :

C'est de loin le facteur le plus important, les chiffres suivants sont significatifs, la quantité de métal éliminé sous l'influence des chélateurs et exprimée en pourcentage de la dose introduite dans l'organisme, dépend du temps écoulé entre la contamination et le début du traitement :

- Si le temps écoulé est 1 heure, le pourcentage excrété est 90 %
- " " " 3 à 4 H. " " 50 %
- " " " 3 jours " " 25-30 %
- " " " 30 " " " 10-20 %

- la toxicité du produit,

Elle limite les doses et la durée du traitement.

Les chélateurs provoquent donc une élimination massive du toxique et la diminution de la rétention par l'organisme. Par voie de conséquence, la survie sera augmentée dans le cas de contaminations par des doses entraînant la mort prématurée, et le développement de tumeurs sera retardé et amoindri.

Restent les cas de contaminations percutanées pour lesquelles les chélateurs ont une action limitée aù plutonium mobilisé, libéré dans la circulation sanguine ou lymphatique, et les cas de contaminations par voie respiratoire par produits insolubles qui sont très peu améliorés par le traitement.

D E U X I E M E P A R T I E

Efficacité comparée des différents chélateurs sur l'élimination urinaire du plutonium chez le rat intoxiqué.

L'acide diéthylènetriaminopentacétique est actuellement la substance la plus utilisée pour accélérer l'élimination du plutonium quand il a pénétré accidentellemnt dans l'organisme ; il a de ce fait particulièrement retenu notre attention, mais avant d'étudier dans le détail les modalités de son action chélatrice, nous avons tenu à chiffrer son efficacité sur le plan de l'élimination urinaire comparativement à un certain nombre d'autres molécules de la même parenté chimique d'une part, et de la desferrioxamine d'autre part.

- CHAPITRE I - EFFICACITE DES ACIDES POLYAMINOPOLYCARBOXYLIQUES -

1°) - PROTOCOLE OPERATOIRE -

Quarante rats mâles de 100 à 120 grammes reçoivent par voie intrapéritonéale, en une unique injection, sous forme de citrate, 10 μCi/Kg de ^{239}Pu.

Les animaux sont répartis en cinq lots égaux et maintenus en cage à métabolisme dans les conditions décrites ci-dessous.

Chaque jour les urines et les matières sont prélevées séparément. La quantité de plutonium est déterminée suivant une technique que nous décrirons plus loin.

Le traitement est pratiqué par injection intrapéritonéale du chélateur sous forme monocalcique sodique.

La quantité administrée est de 10^{-3}M/Kg par injection et ceci aux 3ème, 7ème, 9ème, 11ème jour après l'intoxication.

Le lot n° 1 a constitué le lot témoin.

Numéro du lot	Chélateur	Quantité injectée à chaque injection (en mg)
1	0	-
2	DTPA	47,5
3	EDTA	37,4
4	BAETA	41,8
5	CDTA	42,8

Pendant la survie :

Les animaux ont été groupés par deux dans les cages à métabolisme munies d'un dispositif permettant de recueillir les urines en les séparant des matières fécales.

Fig 1

Ils ont eu constamment de l'eau à leur disposition et ils ont été alimentés en "provende" (Réf. M 25 des Ets Piètrement) solide, seulement deux heures par jour.

En effet, pendant ce temps, les urines n'étaient pas recueillies pour éviter toute souillure par des débris alimentaires, si bien qu'en fait les dosages ont été effectués sur des urines de 22 heures.

Il faut noter cependant que nous avons pu constater que pendant leur repas les animaux n'émettent que peu ou pas d'urine (Fig. 1).

Les urines de chaque période de 22 heures ont été regroupées chaque jour par lots correspondant à six rats de chacun des groupes et leur volume complété à 100 ml.

Nous avons donc disposé chaque jour et pour chaque lot de 100 ml d'une solution correspondant à l'élimination urinaire de six rats pendant 22 heures.

2°) METHODE DE DOSAGE DU PLUTONIUM ELIMINE -

Il existe un certain nombre de méthodes de détermination du plutonium urinaire employées aussi bien en Hygiène Industrielle que pour les expérimentations animales.

La plupart peuvent être schématisées ainsi :

- séparation du toxique après ou non minéralisation, purification de l'échantillon en vue du comptage par scintillation solide de l'activité α.

  La séparation peut être effectuée par coprécipitation, extraction par solvant ou chromatographie par échanges d'ions.

- préparation de l'échantillon de comptage pouvant se faire, soit par reprécipitation, électrodéposition, ou évaporation.

  Le comptage a lieu grâce à la fluorescence du sulfure de zinc sous l'influence du rayonnement

Cette lumière de fluorescence est captée par la photocathode d'un tube photomultiplicateur dont le courant électrique de sortie est amplifié avant d'être analysé par un ensemble électronique, sélecteur ou échelle de comptage.

Une haute spécificité est obtenue pour la purification du plutonium tétravalent par résine anionique à l'échelle industrielle. HENRY (92) a adapté ce procédé à la détermination des traces de plutonium dans l'urine et dans l'eau.

La séparation du plutonium est réalisée par coprécipitation sans minéralisation préalable (93) pour les examens de dépistage.

A ébullition, à pH égal ou supérieur à 10, les phosphates de calcium et magnésium précipitent et entraînent le plutonium.

Le culot de précipitation est repris par l'acide nitrique 7N à chaud.

En milieu acide nitrique concentré (7 à 8N) le plutonium tétravalent forme des complexes chargés négativement $Pu(NO_3)_6^{2-}$ qui se fixent sur les résines anioniques.

Pour que la fixation soit sélective, il faut stabiliser la valence IV du plutonium par le nitrite de sodium (94)

$$Pu^{3} + NO_2^- + 2H^+ = Pu^{4} + NO + H_2O$$

$$PuO_2^{2+} + NO_2^- + 2H^+ = Pu^{4} + NO_3^- + H_2O$$

L'acide nitrique permet l'élimination des cations gênants (Fe-U).

L'élution se fait en milieu acide chlorhydrique 0,5 N.

L'emploi de l'acide chlorhydrique favorise le rendement qui peut être amélioré par l'emploi d'un réducteur (95) tel que l'hydroxylamine, sous l'influence duquel le plutonium tétravalent est réduit à la valence III non complexable.

L'éluat, après concentration, est évaporé sur verre de montre. L'activité α est comptée par scintillation solide.

Lorsque le plutonium est éliminé sous l'influence de chélateurs, il n'est pas entraîné par la précipitation des phosphates, et dans ce cas, suivant l'activité deux solutions sont possibles :

- en Hygiène Industrielle, les dosages mettant en évidence une activité heureusement le plus souvent faible, seule une minéralisation préalable permet l'emploi de la méthode précédente.
- au cours d'une expérimentation, l'activité est assez forte pour que sa détermination soit possible sans séparation radiochimique, par comptage, par scintillation liquide.

Cette technique de comptage a été décrite par des chercheurs de l'Université de Rochester (96).

Le prélèvement urinaire est dilué à un volume déterminé, et une partie aliquote est mise en solution dans un mélange scintillant à base de PPO et POPOP, mélange maintenant classique, utilisé pour la détection des émetteurs β de faible énergie. Le rendement de comptage dans le cas de plutonium est de 100% plus ou moins 3% en 4 π.

3°) RESULTATS -

L'élimination urinaire spontanée est de l'ordre de 1,5% le premier jour, puis de 0,3 et 0,1% les deuxième et troisième jours, ensuite elle est inférieure à 0,1%, cette décroissance suit une loi exponentielle dont LANGHAM et coll. ont donné l'expression mathématique :

$$Y = 0{,}20\ t^{-0{,}74} \qquad (97)$$

où Y est le pourcentage de la dose absorbée excrétée par jour.

Sous l'influence des substances chélatrices testées, ces chiffres sont augmentés considérablement.

Les courbes 2 & 3 expriment les résultats des dosages de Pu urinaire en fonction du temps.

La première porte en ordonnée, le pourcentage simple de la dose injectée. Nous voyons que le DTPA majore d'un facteur 100 l'élimination urinaire dans les 24 heures qui suivent l'injection du chélateur.

Le CDTA est le moins efficace pendant la même période (T x 12,5), mais son action est plus prolongée.

La deuxième série des courbes exprime les résultats en % cumulés et met en relief la très nette supériorité du DTPA.

Une sixième courbe de cette série correspond à des animaux dont le traitement n'a comporté que 2 mg de DTPA au 11° jour. La quantité totale excrétée par l'urine est de 2% plus faible environ.

Nous avons rassemblé dans le tableau suivant les taux d'élimination exprimés en pourcentage de la dose injectée pour chaque jour.

Date	Témoins	DTPA	EDTA	BAETA	CDTA
1	1,4				
2	0,3				
3	0,1				
4	0,04	3,6	1,0	1,9	0,5
5		1,2	0,3	0,7	0,3
6		0,6	0,2	0,8	0,3
7		0,7	0,2	0,1	0,4
8		1,7	0,5	0,6	0,7
9		0,9	0,4	1,6	0,5
10		1,6	0,6	0,7	0,5
11		0,6	0,1	0,1	0,3
12		0,8	0,1	0,2	0,4
13		0,4	0,1	0,3	0,1

- Elimination urinaire en % de la dose injectée -

Nous pouvons facilement en déduire que si tous les chélateurs augmentent l'excrétion, le DTPA provoque une augmentation plus importante et plus régulière.

Au 12ème jour après la contamination, les animaux de tous les lots ayant reçu les quatre injections, la quantité moyenne excrétée pour chaque lot peut être chiffrée ainsi :

Témoin	DTPA	EDTA	BAETA	CDTA
2,3	13,6	5,3	8,5	5,7

- Excrétion urinaire cumulée des douze premiers jours - (en pourcentage de la dose injectée)

Ces chiffres expriment clairement la supériorité du DTPA sur les trois autres drogues.

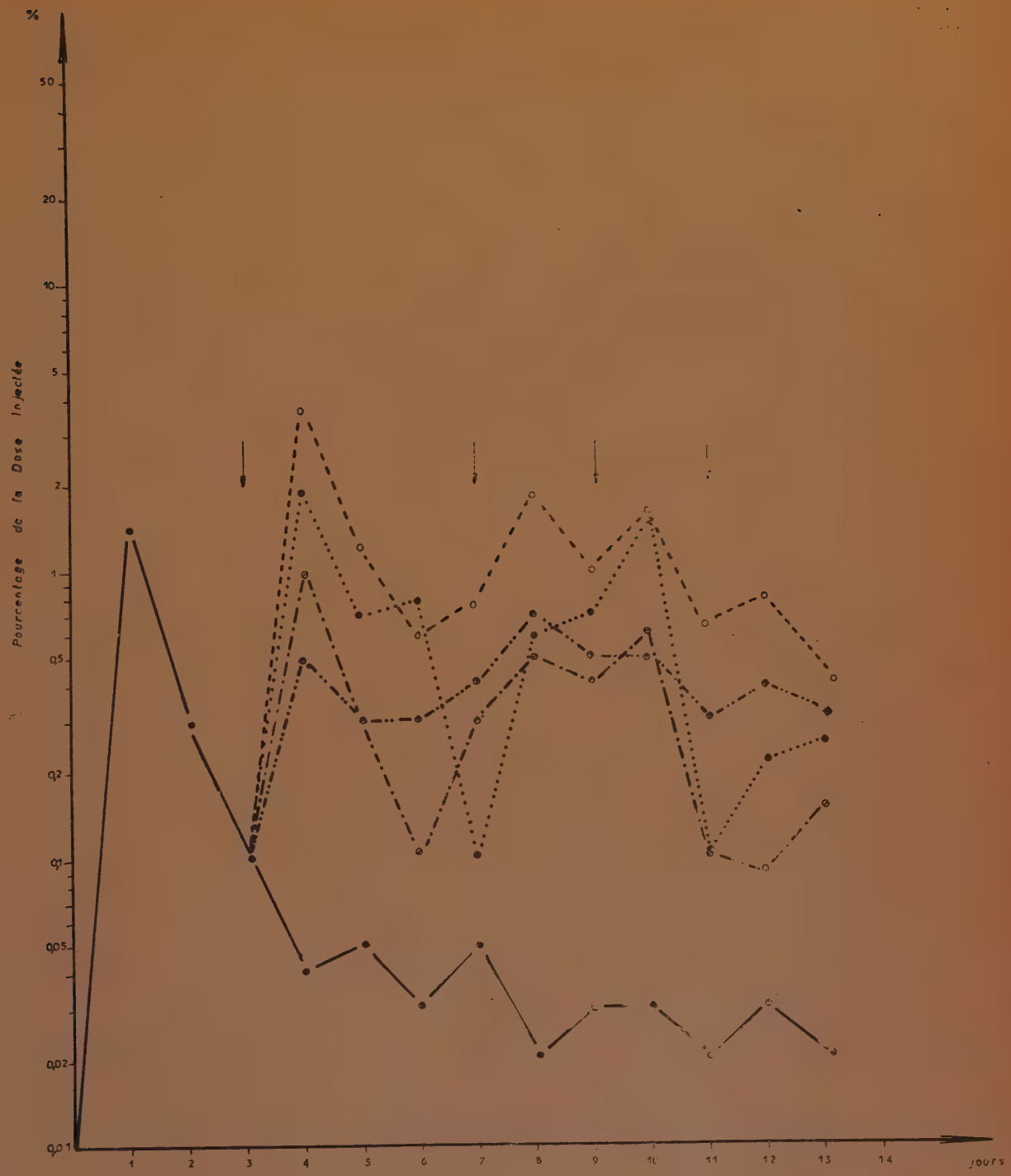


Fig : ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM

—●— Rats Temoins

Rats ayant été traités aux jours indiqués par les flèches

par le DTPA ---o---- CDTA -··-·●··- -BAETA · ·●··· EDTA —·—●—·—

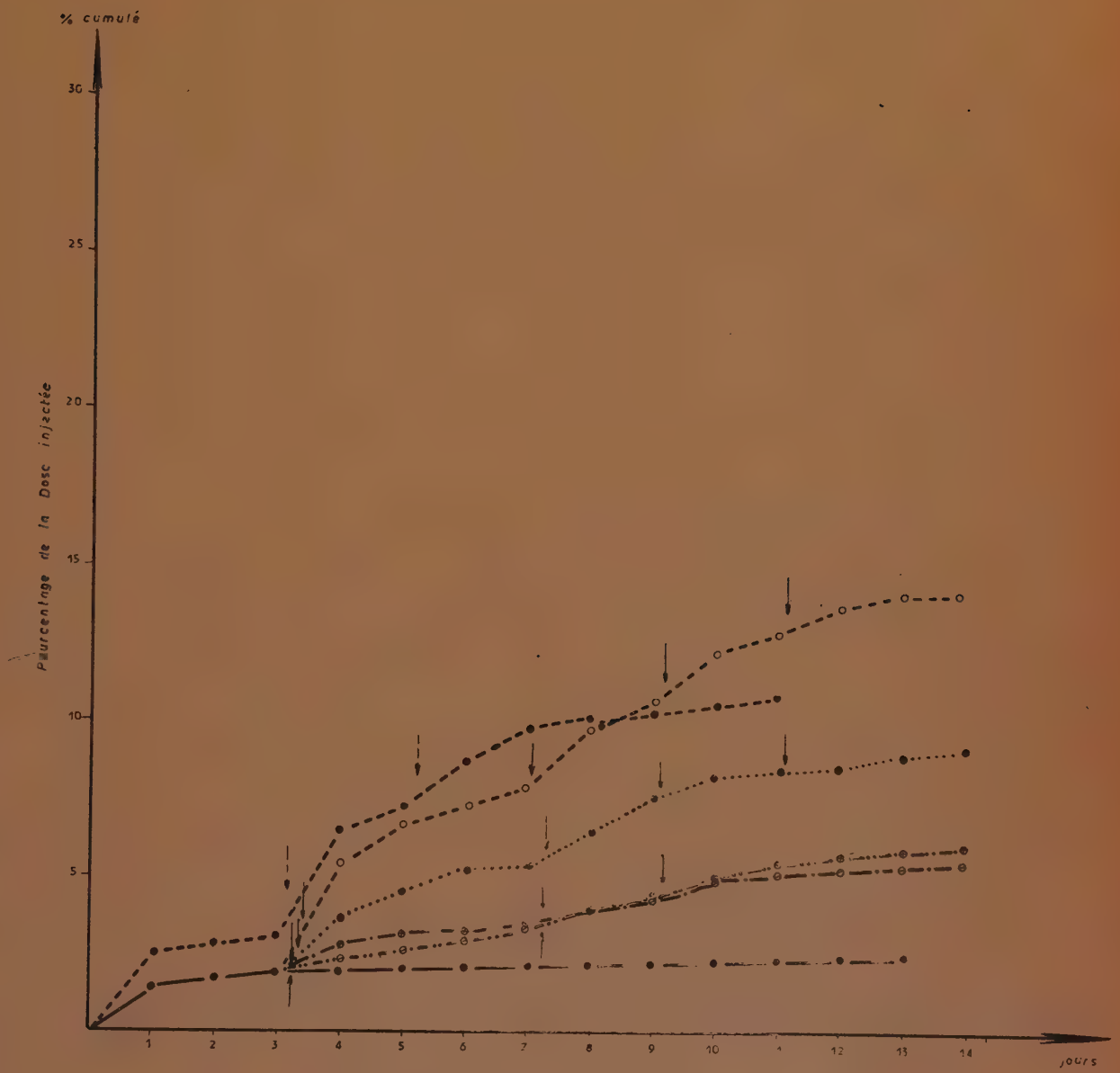


Fig : 3 ELIMINATION URINAIRE de PLUTONIUM

—— Rats Témoins

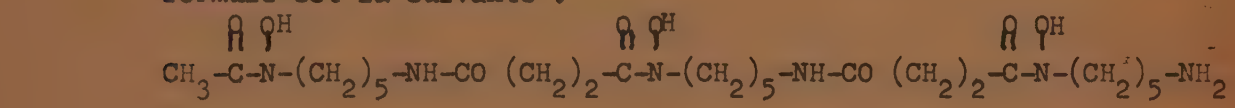
Rats ayant été traités aux jours indiqués par les flèches

par le DTPA ---o--- CDTA ---o--- BAETA ····●···· EDTA —·—●—·—

- CHAPITRE II - EFFICACITE DE LA DESFERRIOXAMINE -

Depuis quelques mois une substance de structure différente, la desferrioxamine, dont la principale indication d'emploi est le traitement des hémachromatoses, est employée à titre expérimental comme antidote. Compte tenu de ces facteurs particuliers, nous avons préféré rappeler séparément, dans ce chapitre, quelques généralités concernant sa structure et ses propriétés pharmacologiques.

Le desferal est le méthanesulfonate de desferrioxamine B (98). La desferrioxamine est un métabolite de certains actinomycètes du type streptomyces, c'est une sidéramine dont la molécule contient trois groupements acide hydroxamique : R - CO - NHOH et dont la formule est la suivante :



C'est une poudre blanche, facilement soluble dans l'eau, de poids moléculaire faible. Elle forme avec le fer dont elle peut lier jusqu'à 9,3% en poids, un complexe spécifique très stable, rouge brique, hydrosoluble, de structure octaédrique, et dont la constante de stabilité est 10^{31}. Cette affinité est si forte que la mobilisation du fer est réalisée in vivo aux dépens des composants tissulaires, en particulier des protéines telles que ferritine hémosidérine et transferrine. Cet effet se manifeste quelle que soit la voie d'introduction dans l'organisme : parentérale ou orale (dans ce dernier cas, la substance agit par blocage de la résorption intestinale du fer).

Le pouvoir complexant de la desferrioxamine ne se manifeste pas in vivo vis à vis des cations tels que Na - K - Ca - Mg - Al - Mn - Zn - Co - Ni - Cu. Elle a sur le métabolisme des hydrates de carbone un effet favorable dont le mécanisme est encore obscur. Un emploi prolongé provoque une augmentation paradoxale de l'hémoglobine et des érythrocytes.

La toxicité orale et parentérale est très basse. La DL50 est 520 mg/Kg par voie intraveineuse chez le rat et supérieure à 10 g/Kg per os chez la souris (99). Le médicament est une poudre à dissoudre extemporanément dans un volume variable de soluté

physiologique. Il est administré dans le cas d'utilisation humaine , en perfusion lente ou par voie intramusculaire à raison de 1200 mg par 24 heures en deux injections (100).

SMITH (101) travaillant sur des rats intoxiqués par du citrate de plutonium, commence l'injection des chélateurs une heure après la contamination, puis pratique une deuxième injection à 5 heures et, enfin, une troisième à 24 heures. La rapidité d'administration provoque une élimination urinaire massive évitant ainsi la fixation osseuse et hépatique. La rétention au niveau du squelette est plus faible chez les animaux traités par le DTPA. Au niveau du foie au contraire, la fixation est de 1,3% au lieu de 0,6%. Ceci 5 jours après l'intoxication. Les éliminations urinaires et fécales sont du même ordre de grandeur respectivement : 62 & 67% - 20 & 17%.

Une deuxième étude (102) a été réalisée sur des souris. Le traitement par la D.F.O n'est commencé que le troisième jour après l'intoxication, mais les injections du chélateur sont quotidiennes et poursuivies pendant onze jours.

Les animaux sont sacrifiés. L'élimination urinaire totale est de 45% supérieure à celle des témoins, ce qui correspond à 4% de la dose injectée.

La fixation au niveau du squelette est de 30% inférieure à celle des témoins (21,5 et 30% de la dose injectée).

Au niveau du foie, la fixation est inférieure de 13% à celle des témoins (19 & 22%).

1°) - PROTOCOLE OPERATOIRE -

Tous les rats ont reçu une injection intraveineuse unique de 10 µCi/Kg de citrate de plutonium ; ils ont été répartis en trois lots de 14 animaux chacun :

A) - Les animaux du lot témoin n'ont été soumis à aucun des traitements,

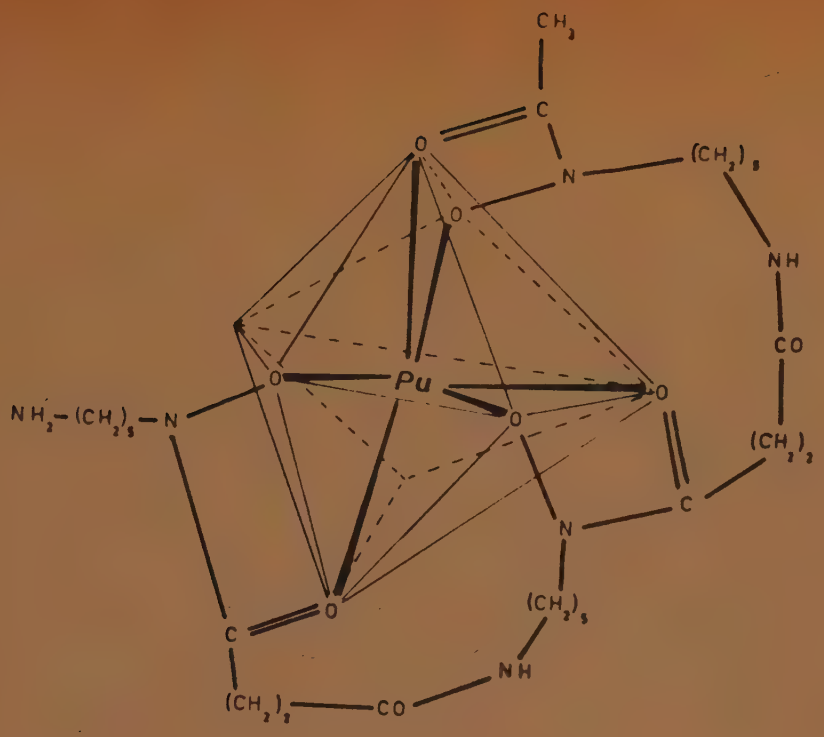
B) - Les deux autres lots correspondant respectivement aux animaux traités par le D.T.P.A et par la D.F.O ont été divisés chacun en deux groupes en fonction du rythme de traitement :
- le premier groupe de chaque lot, soit 6 animaux, a reçu des injections de chélateur 6 heures, puis 3 jours et 5 jours après l'intoxication par le plutonium,
- le deuxième groupe, seulement trois jours et 5 jours après l'injection de plutonium.

La quantité de chélateur administrée a été, pour chaque injection intrapéritonéale, de 0,15 millimole par Kg, c'es-à-dire 75 mg/Kg de D.T.P.A sous forme monocalcique trisodique (PM = 497) et 100mg/Kg de desferal sous forme de méthane sulfonate (PM = 623).

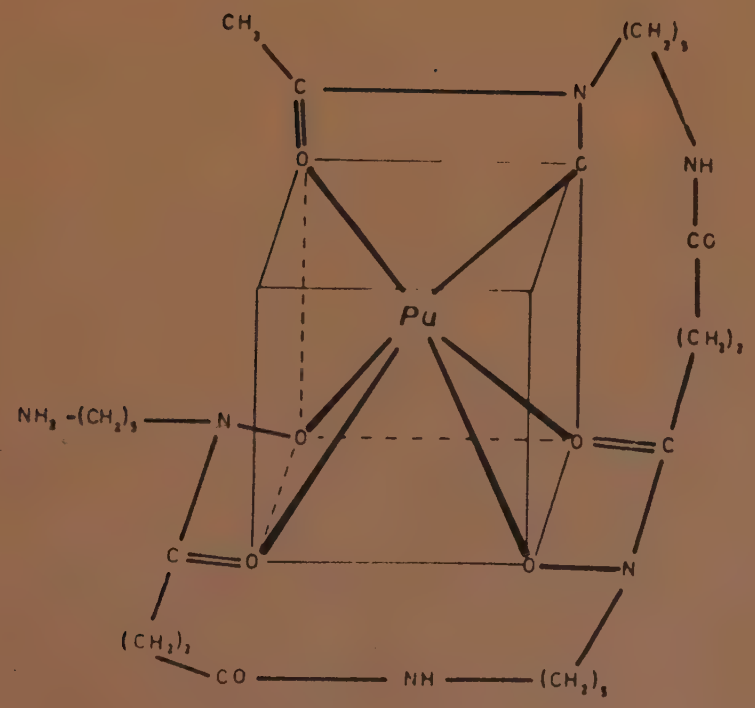
L'expérimentation a été réalisée sur des animaux préalablement adaptés aux conditions de vie en cage à métabolisme : volume réduit, alimentation pendant 2 heures sur 24, eau en permanence. A partir de l'heure de la contamination, les urines ont été prélevées séparément par périodes de 24 heures pendant 14 jours.

Le 21ème jour, les animaux ont été sacrifiés par section de la carotide et disséqués.

La détermination du toxique dans les urines a été faite par comptage de l'activité α du plutonium dans un spectromètre à scintillation liquide.



Structure Dodecaédrique



Structure Cubique

Fig 4 STRUCTURES Fossibles du COMPLEXE Pu Desferrioxamine B

2°) - RESULTATS - ELIMINATION URINAIRE -

ANIMAUX TRAITES SIX HEURES APRES LA CONTAMINATION (Fig.5)

Après la première injection de D.T.P.A l'élimination urinaire de plutonium est supérieure à 23 fois celle des témoins, après la deuxième injection 25 fois, après la troisième injection 30 fois.

L'élimination urinaire cumulée des 14 premiers jours montre que les trois injections de D.T.P.A. provoquent la fuite de 34% de la quantité de plutonium injectée alors que les animaux non traités n'éliminent que 2,6%, c'est-à-dire 13 à 14 fois moins.

La première injection de D.F.O entraîne une élimination urinaire de plutonium 20 fois supérieure à celle des témoins, la deuxième injection 12,5 fois, la troisième injection 30 fois.

L'élimination urinaire cumulée des 14 premiers jours est de 27% pour les animaux traités, c'est-à-dire onze fois celle des témoins.

ANIMAUX TRAITES TROIS JOURS APRES LA CONTAMINATION (Fig.6)

Dans ce cas, après la première injection de D.T.P.A. l'élimination urinaire du toxique est 62 fois celle des témoins ; la deuxième injection porte ce chiffre à 70.

Au 14ème jour, 9,6% de la dose injectée sont éliminés, c'est-à-dire quatre fois le chiffre témoin.

Les facteurs d'accroissement spectaculaires aux troisième et cinquième jours sont dus au fait que l'élimination spontanée du toxique est très faible dès la troisième période de 24 heures.

La première injection de desferrioxamine provoque une élimination égale à 27 fois celle des témoins ; la deuxième injection à 23 fois.

Au quatorzième jour, 4,5% sont éliminés c'est-à-dire un peu moins de deux fois le chiffre témoin.

En conclusion, les molécules polyamino -polycarboxyliques comparées au D.T.P.A. sur le plan de leur efficacité vis à vis de l'élimination urinaire du plutonium, soit l'EDTA, le BAETA, le CDTA n'ont pas fait preuve de qualités pharmacologiques supérieures et de loin.

Le D.T.P.A. reste donc, dans cette classe, le produit le plus actif.

La comparaison entre le D.T.P.A. et la desferrioxamine qui ont des structures chimiques bien différentes, laisse, certes entrevoir de nouvelles possibilités dont l'analyse détaillée serait vraisemblablement d'un grand intérêt.

Mais cette dernière nécessiterait de posséder des renseignements plus complets sur son métabolisme, encore mal connu, qui mériterait de ce fait, à lui seul, une étude complète.

En considération de ces faits, nous avons estimé logique de consacrer la suite de notre travail expérimental au seul D.T.P.A.

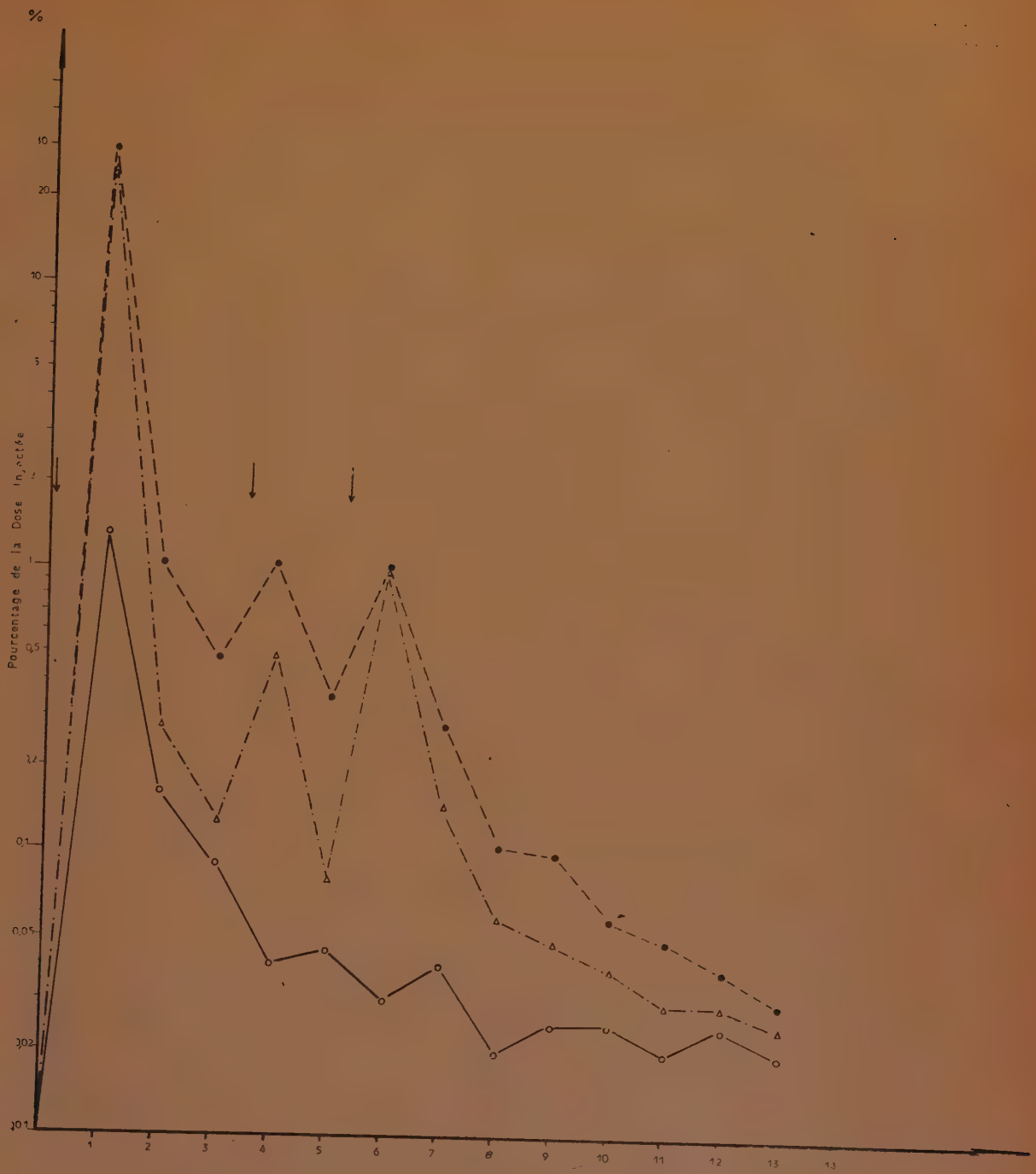


Fig: 5 -ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de Plutonium-

—o— Rats TEMOINS

– –●– – Rats ayant été traités par le DTPA aux jours indiqués par les flèches

–·–△–·– Rats ayant été traités par le DESFERAL aux jours indiqués par les flèches

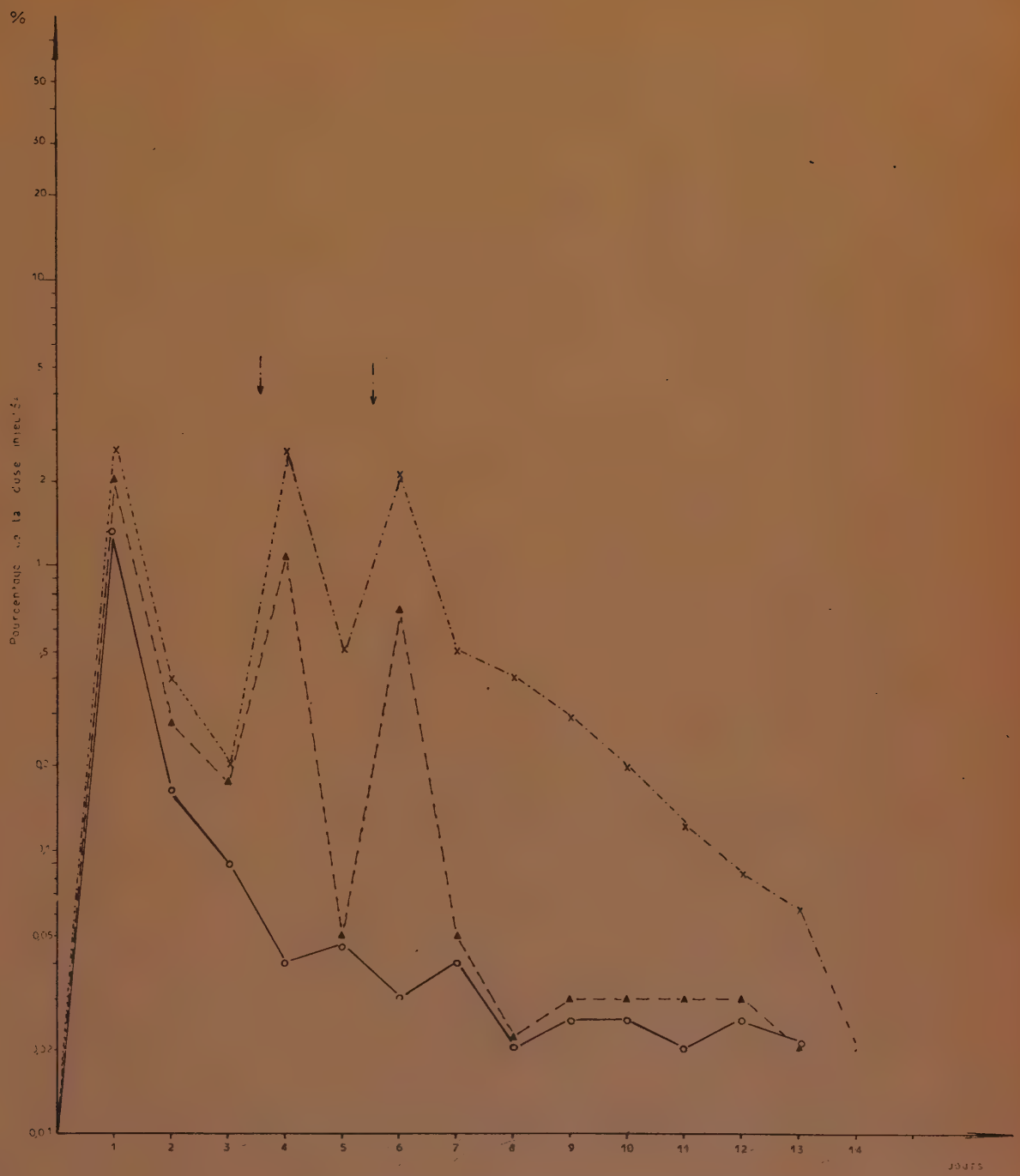


Fig: 5 -ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de Plutonium-

—o— Rats TEMOINS

– – ▲ – – Rats ayant été traités par le DESFERAL aux jours indiqués par les flèches

·····x····· Rats ayant été traités par le DTPA aux jours indiqués par les flèches

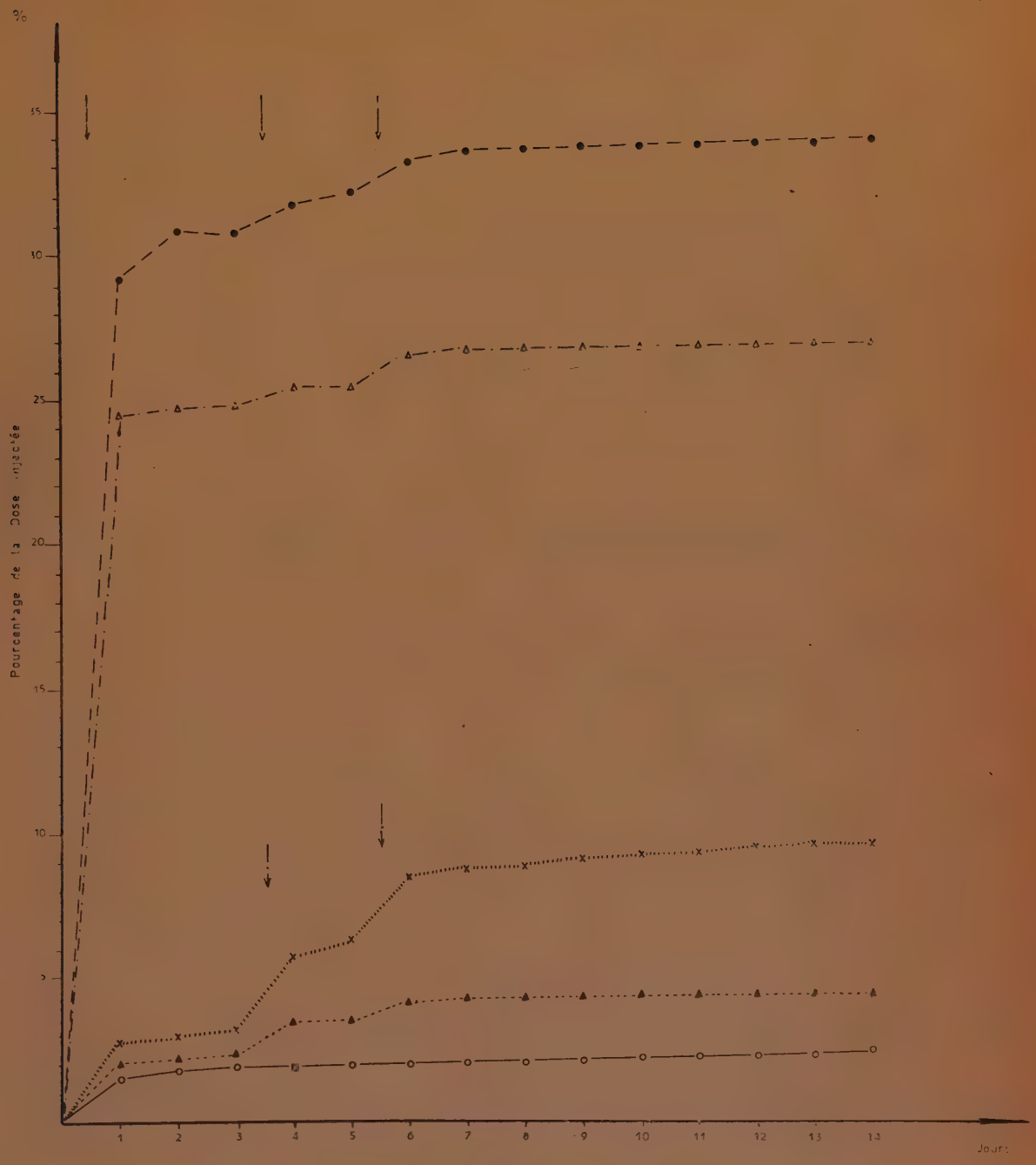


Fig. 7 **ELIMINATION URINAIRE de PLUTONIUM** (exprimée en % cumulé)

—o— Rats TEMOINS

---●--- Rats ayant été traités par le DTPA aux jours indiqués par les flèches (——→)

-·-▲-·- Rats ayant été traités par le DESFERAL aux jours indiqués par les flèches (——→)

·····▲····· Rats ayant été traités par le DESFERAL aux jours indiqués par les flèches ——→)

·····×····· Rats ayant été traités par le DTPA aux jours indiqués par les flèches (——→)

T R O I S I E M E P A R T I E

Etude des modalités d'action du D.T.P.A.

- CHAPITRE I - INFLUENCE DU RYTHME DE TRAITEMENT SUR L'ELIMINATION DU PLUTONIUM -

Pour cette étude, 48 rats Wistar mâles ont été intoxiqués.

Les conditions opératoires sont les mêmes que précédemment en ce qui concerne la contamination, les doses de chélateur, la survie, les prélèvements d'urine, les dosages du plutonium et le sacrifice des animaux ; de plus, pour compléter notre bilan, nous avons tenu à chiffrer également l'importance de l'excrétion fécale.

A cet effet, les excréta ont été isolés des urines dans les conditions précisées précédemment et le plutonium dosé après minéralisation et dissolution des cendres par l'acide chlorhydrique.

Seuls varient le rythme et le nombre des injections du chélateur.

En fonction de ceux-ci, les animaux ont été répartis en sept lots, non compris les témoins.

Le tableau suivant résume les temps séparant les différentes injectio

Lot	Pu	6h	1 J.	2 J.	3 J.	4 J.	5 J.	6 J.	7 J.	8 J.	9 J.	10J.	11J.
	+		+	+	+								
	+	+		+									
	+	+			+	+							
	+				+								
	+				+	+	+	+					
	+				+	+						+	+
	+				+		+						

1°) - RESULTATS DE L'ELIMINATION URINAIRE -

Les chiffres sont indiqués sur les figures 8 à 12.

- La figure 8 correspond au lot n° 1
- La figure 9 correspond au lot n° 2, et au lot n° 3
- La figure 10 correspond au lot n° 4, et au lot n° 7
- La figure 11 correspond au lot n° 5, et au lot n° 6
- La figure 12 reprend tous les résultats exprimés en % cumulés.

Nous voyons que si une unique injection provoque une augmentation de l'élimination qui se traduit par un pic assez aigu (Fig. 10), une injection quotidienne pendant trois jours de suite étale le pic (Fig. 8)

Les animaux traités au bout de 6 heures , éliminent plus de 30% du toxique pendant les 24 premières heures.

Si le traitement est retardé, les quatre injections quel que soit leur éloignement, provoquent le même % éliminé : 15 à 16% dans les deux cas.

La première constatation, et de loin la plus importante est que ,la quantité du toxique chassé hors de l'organisme dépend beaucoup plus de la précocité du traitement que du nombre d'injections pratiquées. Deux injections à + 6 heures et à 2 jours provoquent l'élimination de 2,5 fois plus de plutonium que 4 injections pratiquées entre le troisième et le septième jour.

Jour	Lot n°1	2	3	4	5	6	7
Pu** 1	1,4	*32,0	*30,0	1,5	1,4	1,5	2,7
2	*5,3	2,9	*2,2	0,3	0,3	0,3	0,3
3	*2,6	* 3	1,4	0,1	0,1	0,1	0,2
4	*2,1	1,2	* 2,0	*3,2	*5,6	*4,4	*2,5
5	2	1,0	* 1,6	1,1	*2,2	*3,0	0,7
6	1,3	0,6	0,9	o,7	*1,9	1,5	*2,1
7	0,6	0,6	0,7	0,4	*1,7	1,0	0,3
8	0,4	0,3	0,4	0,3	0,7	0,7	0,1
9	0,4	0,3	0,4		0,6	0,4	0,2
10	0,3	0,2	0,4		0,6	0,6	0,2
11	0,2	0,2	0,3		0,2	*1,1	0,1
12	0,2	0,1	0,2		0,2	*1,2	0,1
Total des 12 premiers jours.	16,8	42,4	40,5	(8 J.) 7,5	15,5	15,8	9,6

- Elimination urinaire quotidienne -
- Exprimée en % simple - pour chaque lot -

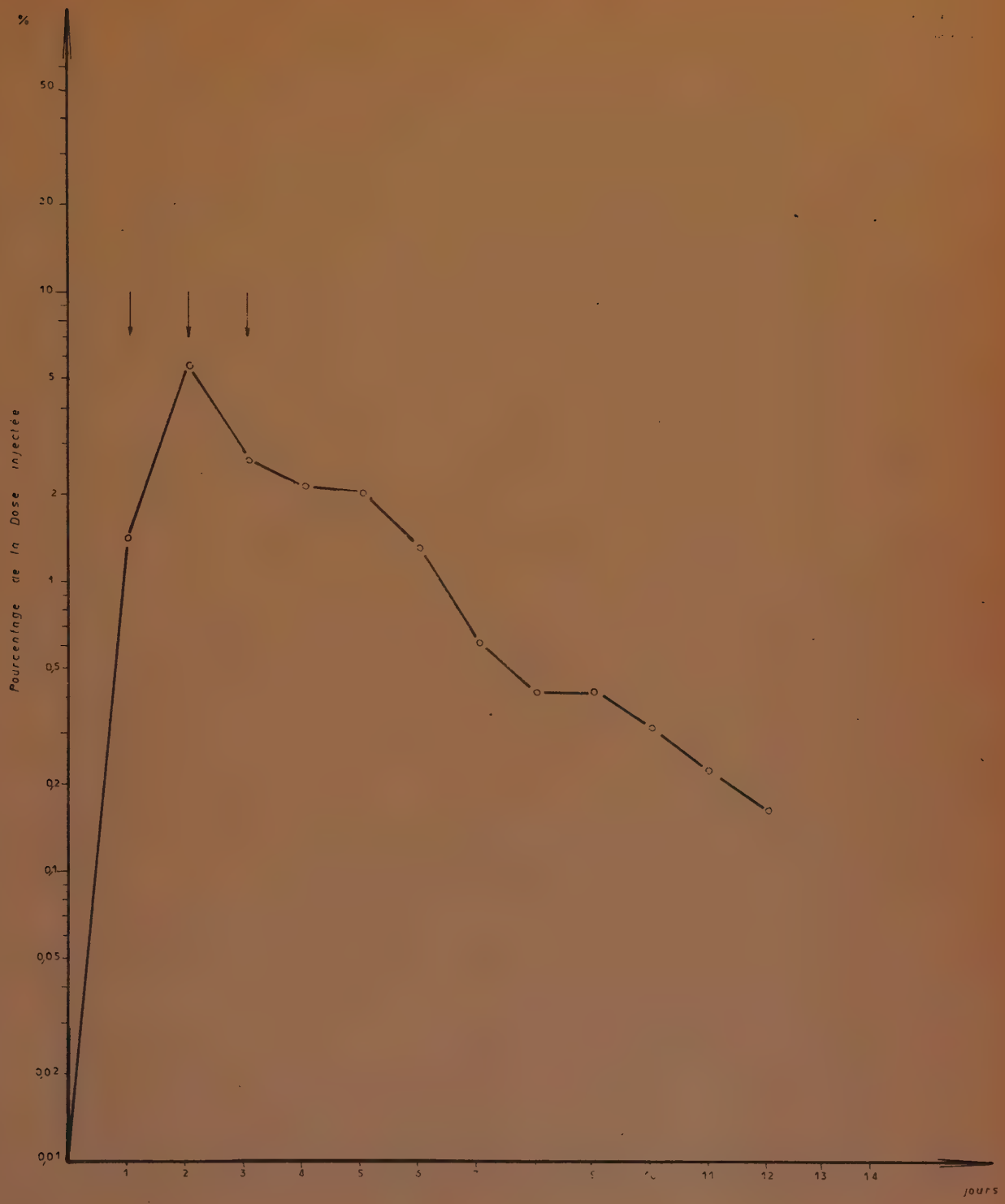


Fig : 3 ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM

Injection de DTPA aux jours indiqués les flèches

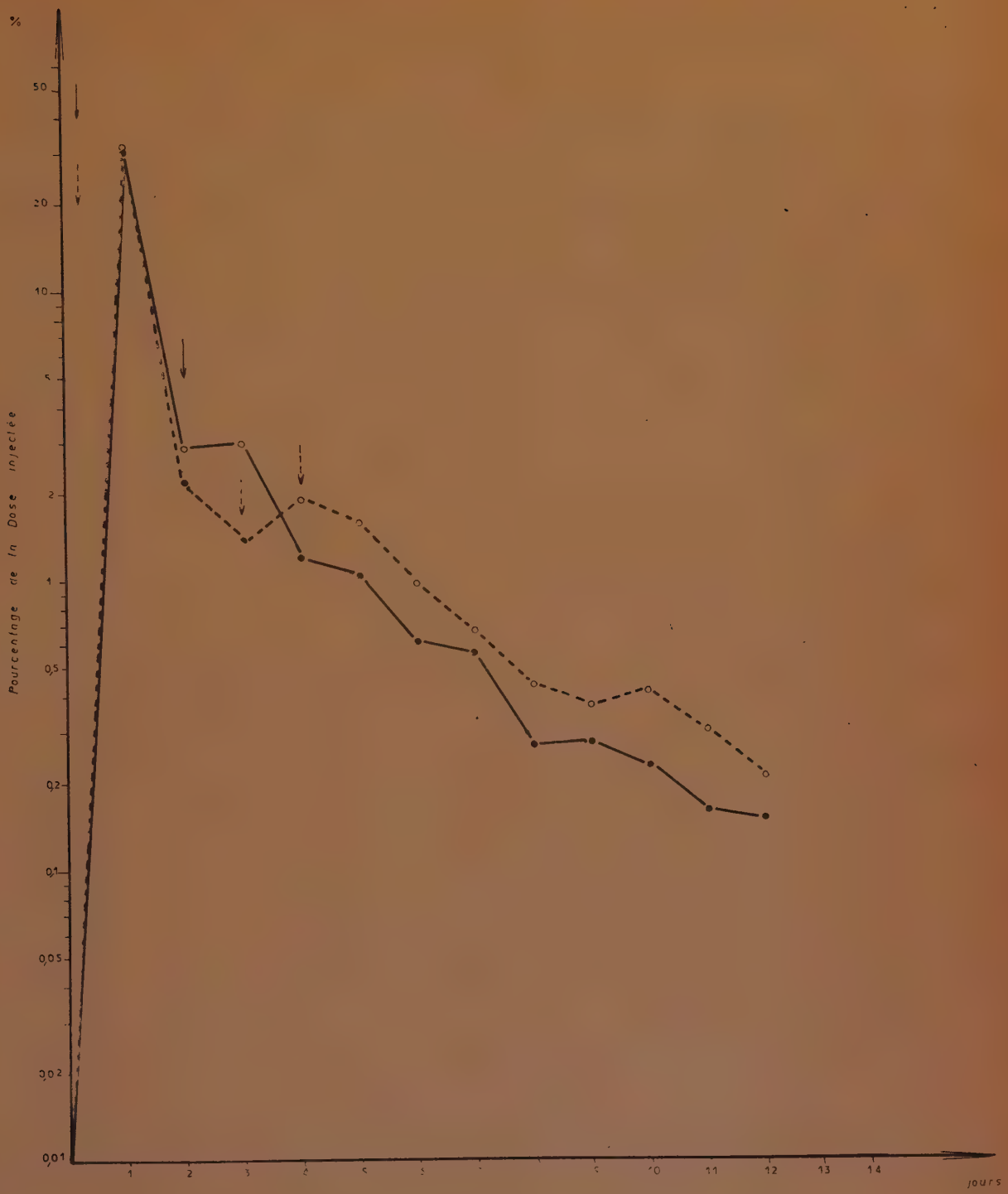


Fig : 9 ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM

injection de DTPA aux jours indiqués les flèches

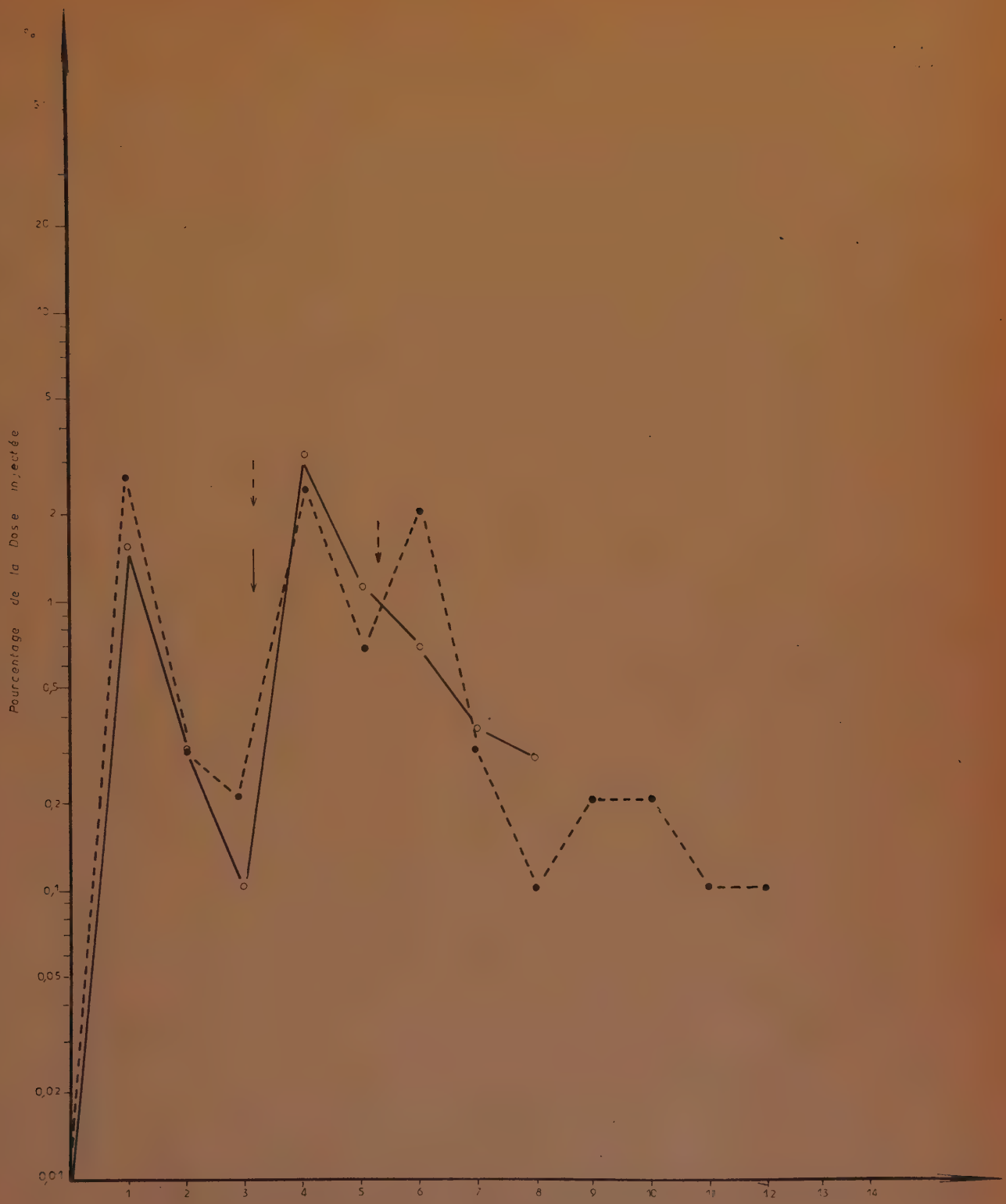


Fig : 1)

ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM

Injection de DTPA

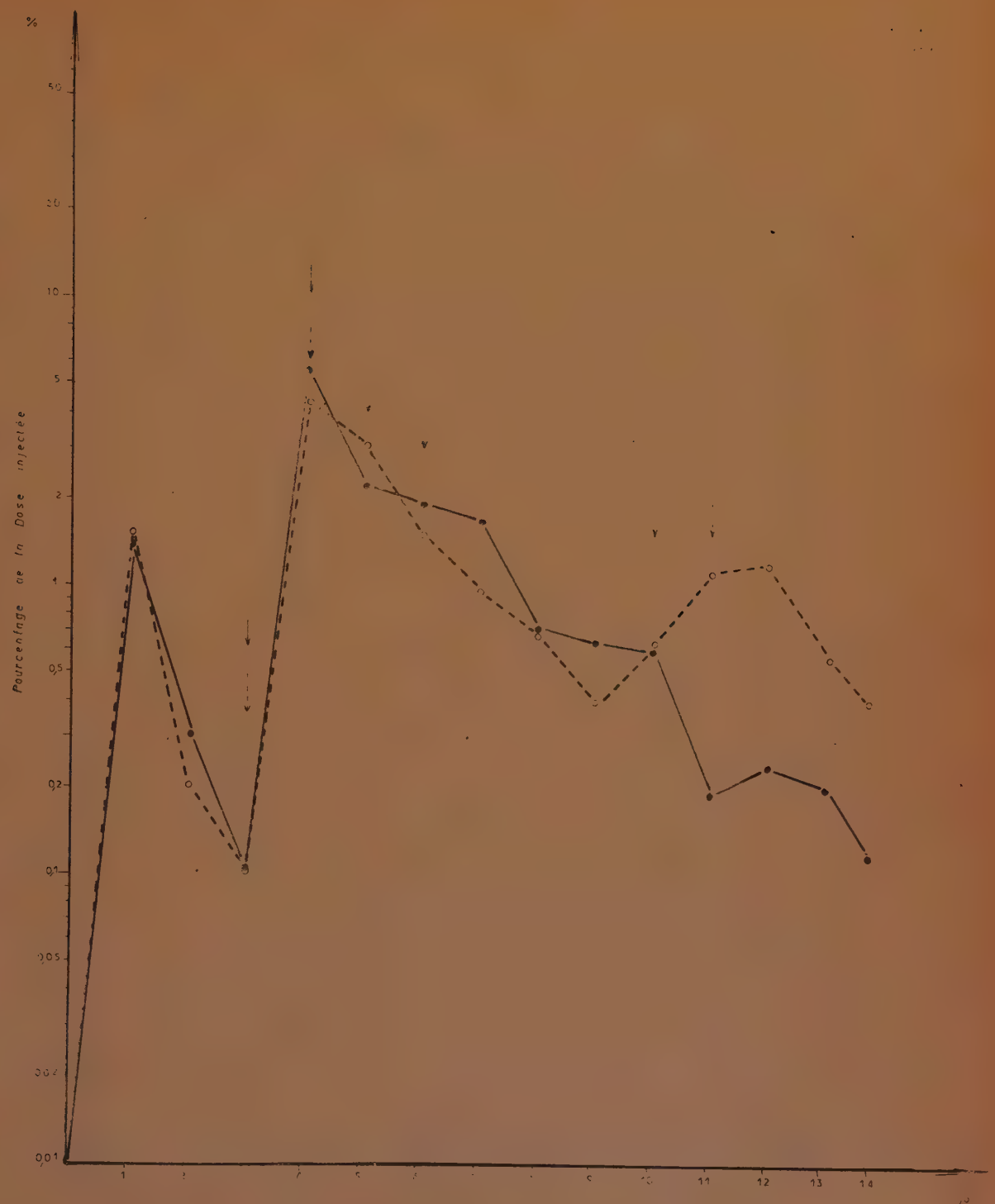


Fig 11 ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM

Injection de DTPA aux jours indiqués les flèches

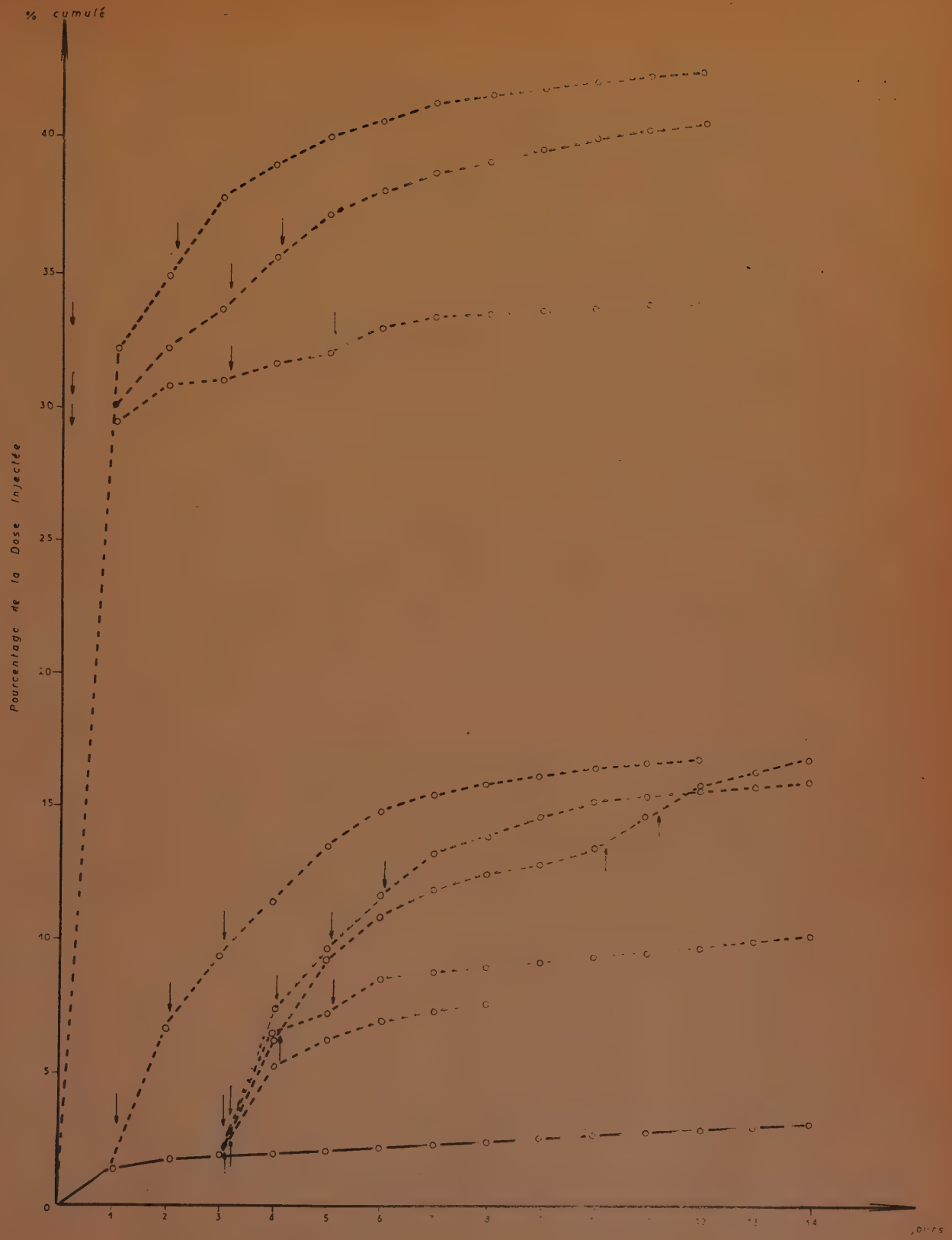


Fig : 12 ELIMINATION URINAIRE du PLUTONIUM

——— Rats Temoins

– – – – Rats ayant été traités par le DTPA aux jours indiqués par les flèches

2°) - RESULTATS DE L'ELIMINATION FECALE -

Les figures suivantes 24 à 28 schématisent les résultats obtenus.

- La figure 13 correspond au lot n° 1
- La figure 14 correspond au lot n° 2 et n° 3
- La figure 15 correspond au lot n° 4 et n°7
- La figure 16 correspond au lot n° 5 et n° 6
- Les figures 17 a et 17 b reprennent les résultats exprimés en % cumulés.

Nous constatons que les différences entrainées par les variations du rythme du traitement sont beaucoup moins marquées que dans le cas de l'élimination urinaire ; que le pic correspondant à l'élimination des 24 premières heures suivant l'injection du chélateur est moins net, et que l'élimination de la période de 24 heures suivante est loin d'être faible.

L a fuite du métal toxique, par voie fécale, sous l'influence du chélateur est déclendhée par l'injection, mais se prolonge, bien que l'expérimentation ait été faite sur des rats, animaux dépouvus de vésicule biliaire et chez lesquels l'excrétion du plutonium par voie biliaire est relativement brève.

Jour	Lot n° 1	2	3	4	5	6	7
Pu^+							
1	1,2	$^+$3,6	$^+$2,2	1,6	1,8	1,8	1
2	$^+$3,0	5,6	7,8	2,1	1,4	2,3	2,4
3	$^+$4,8	$^+$2,4	2	1,2	1,5	1,9	0,9
4	$^+$1,6	3,7	$^+$2,6	$^+$2,8	$^+$1,8	$^+$1,6	$^+$1,8
5	1,7	2,0	$^+$0,6	4	$^+$3,2	$^+$3,2	3
6	1,0	0,2	0,8	2,1	$^+$2,7	2,9	$^+$3,4
7	0,5	0,4	0,2	1,6	$^+$1,8	1,6	4,5
8	0,5	0,1	0,7	0,7	0,6	0,5	1,1
9	0,3	0,2	0,2		0,7	0,7	1,2
10	0,4	0,2	0,3		0,6	0,6	0,7
11	0,4	0,1	0,6		0,5	$^+$0,5	0,5
12	0,2	0,1	0,4		0,3	$^+$0,3	0,4
Total des 12 premiers jours.	15,6	18,6	18,4	(8 J.) 16,1	16,9	17,9	20,9

- Elimination fécale quotidienne -

- Exprimée en % simple - pour chaque lot -

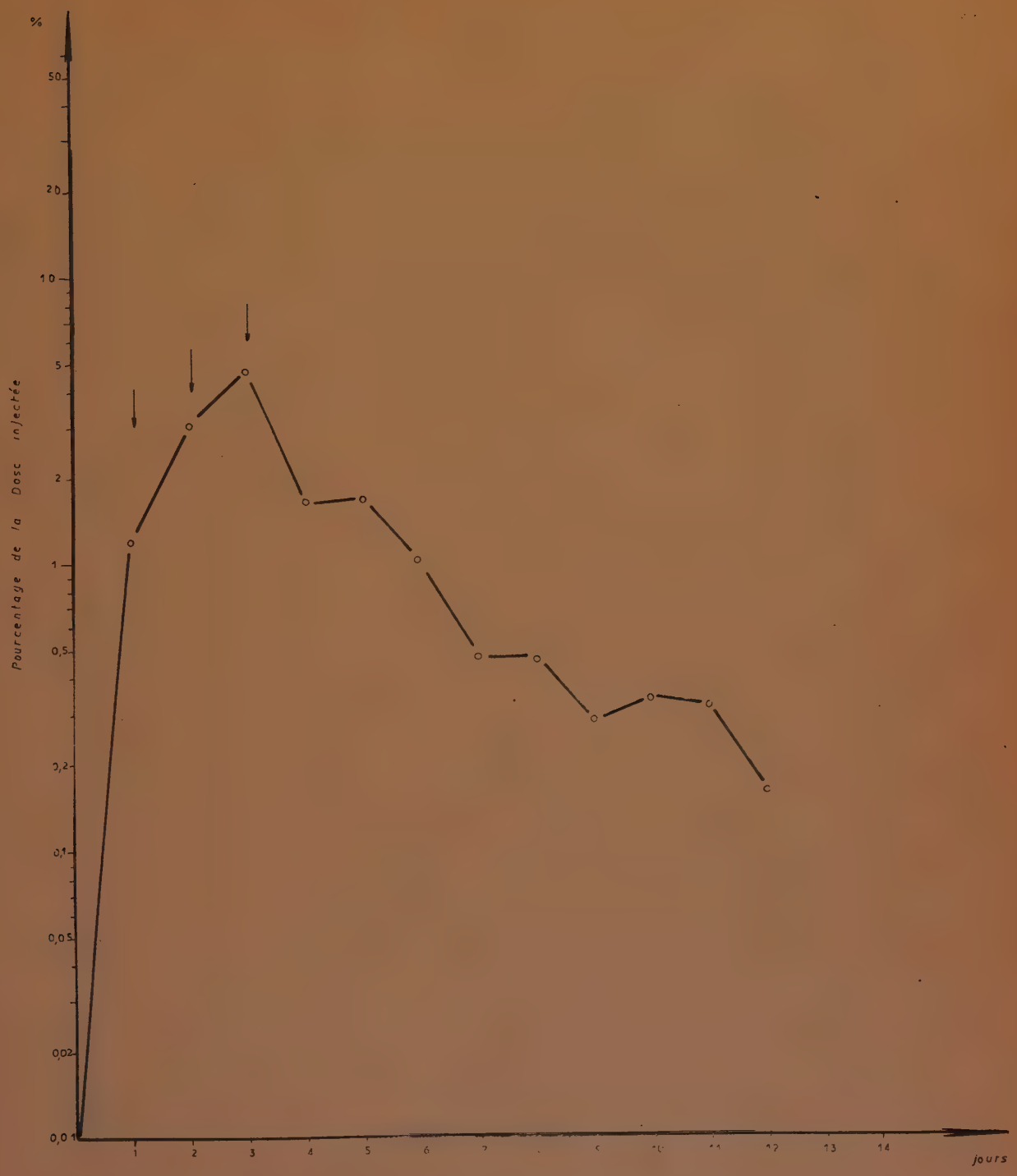


Fig. 13 ELIMINATION FECALE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM

Injection de DTPA aux jours indiqués par les flèches

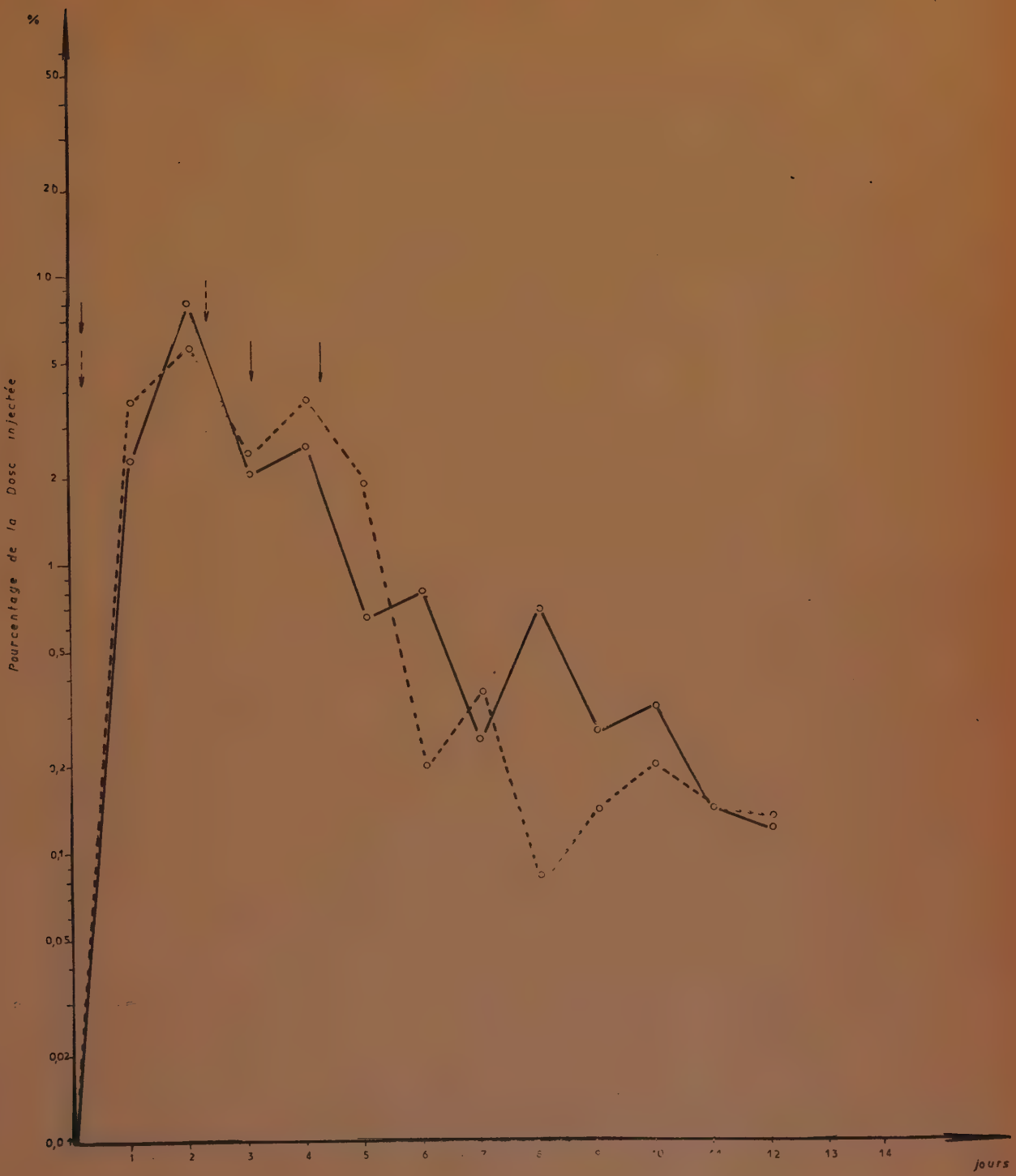


Fig: 14 ELIMINATION FECALE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM
Injection de DTPA aux jours indiqués par les flèches

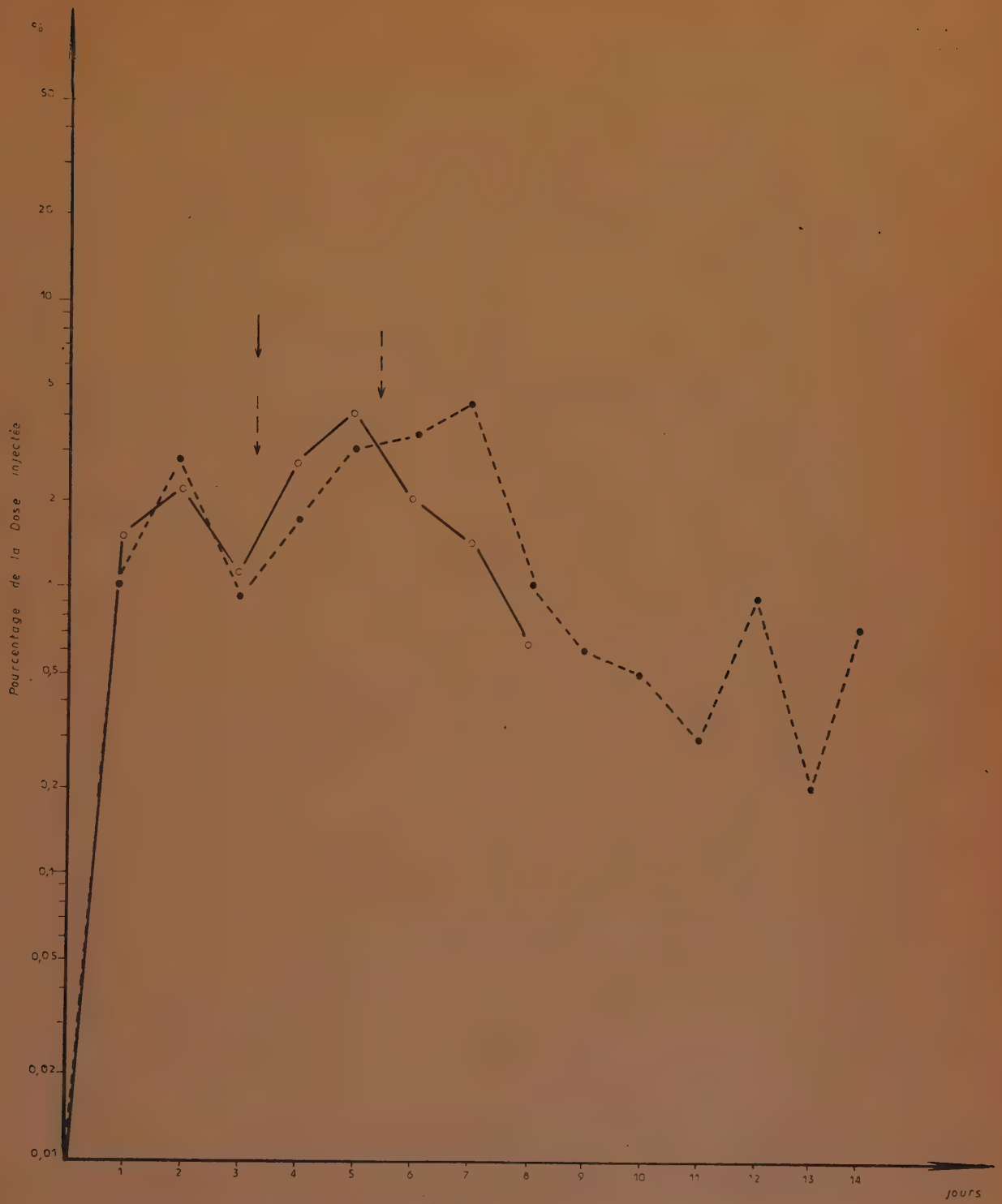


Fig : 15 ELIMINATION FECALE QUOTIDIENNE [illegible] PLUTONIUM

Injection de DTPA aux jours indiqués [illegible] les flèches

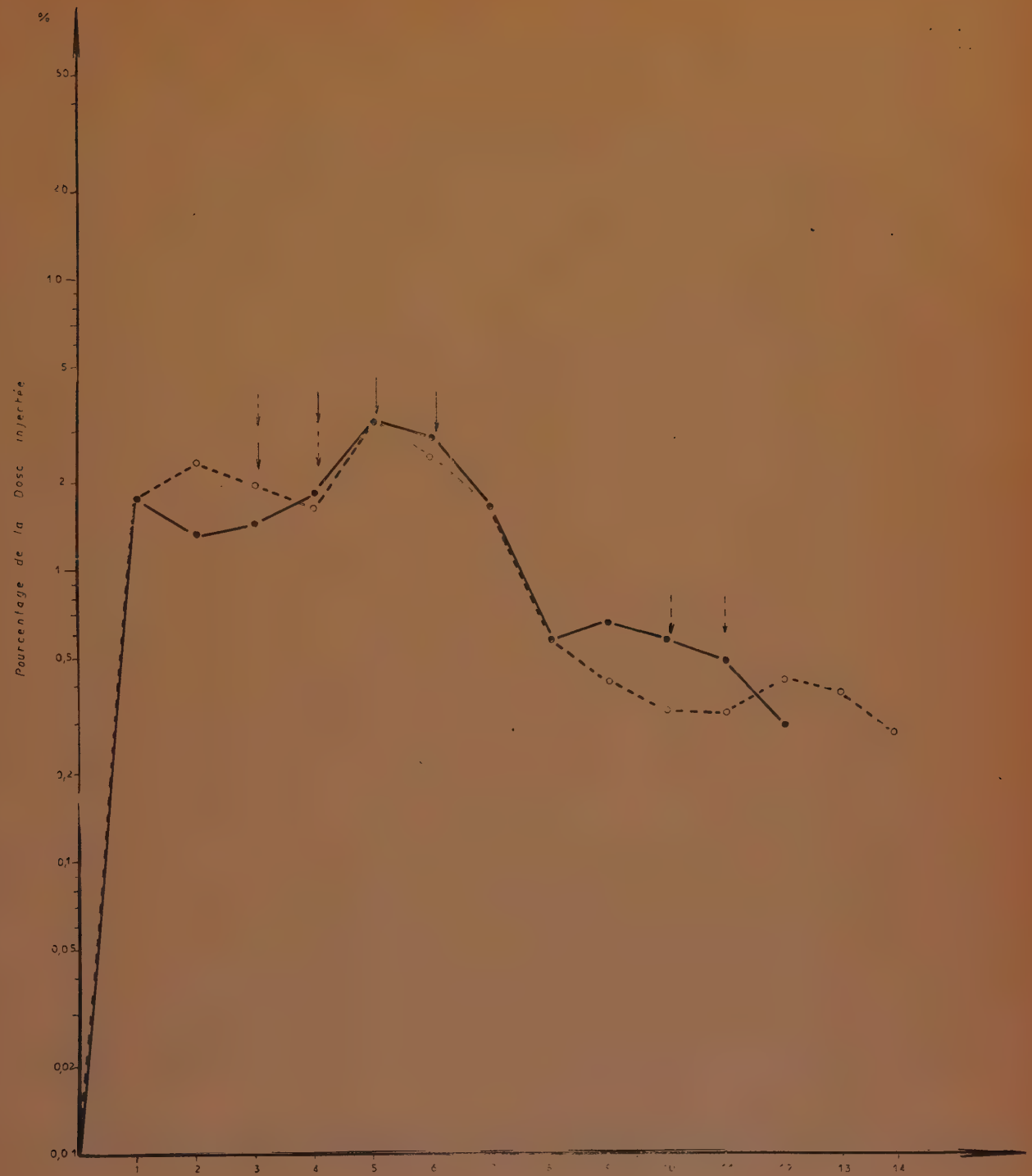


Fig: 16 ELIMINATION FECALE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM
Injection de DTPA aux jours indiqués par les flèches

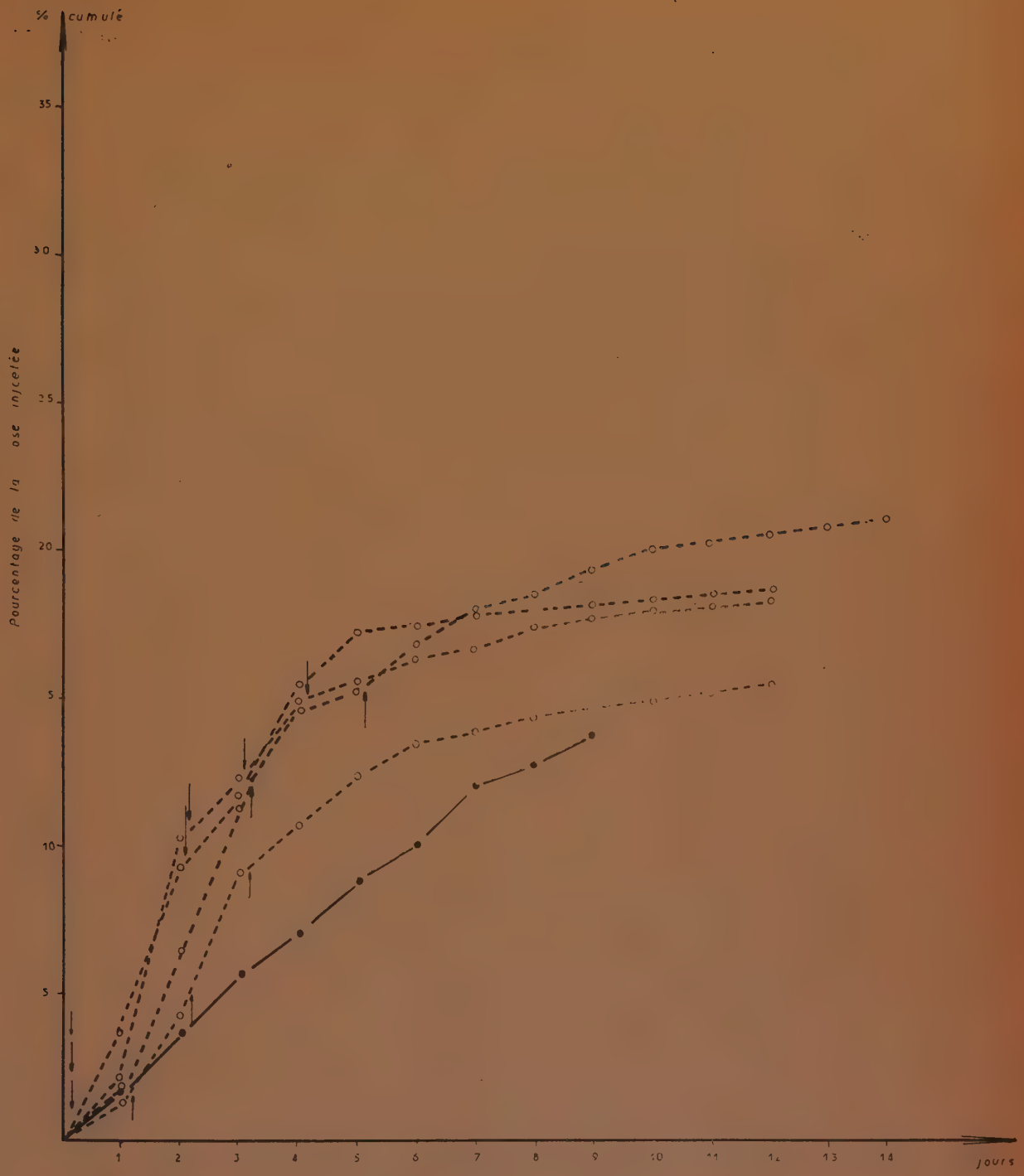


Fig: 17 A ELIMINATION FECALE de PLUTONIUM

—— —— Rats Temoins

--- --- Rats ayant été traités par le DTPA aux jours indiqués par les fléches

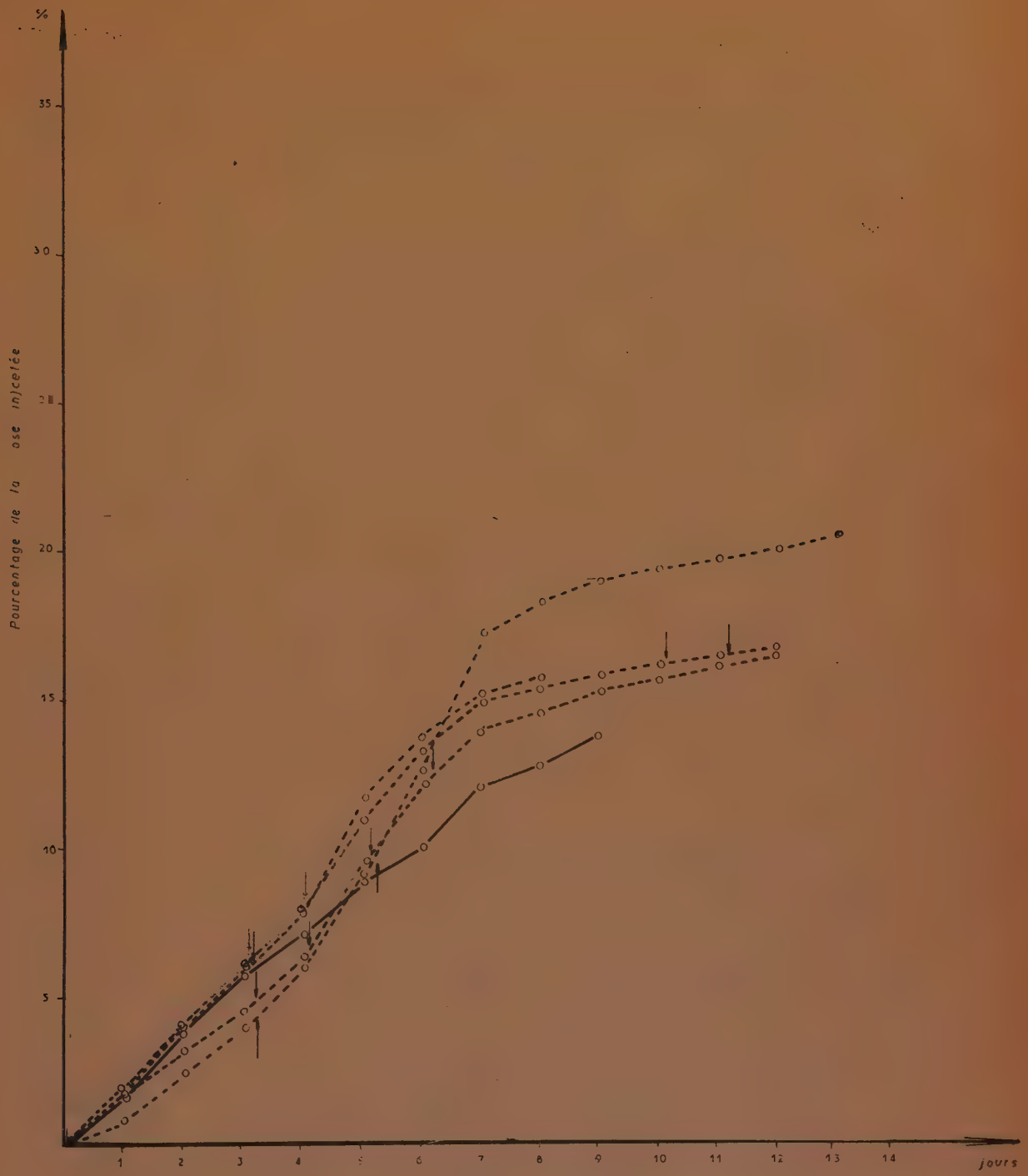


Fig: 17 B ELIMINATION FECALE de PLUTONIUM

—— —— Rats Temoins

--- --- Rats ayant été traités par le DTPA aux jours indiqués par les flèches

- CHAPITRE II - INFLUENCE DE LA DOSE INJECTEE SUR L'EXCRETION URINAIRE DU PLUTONIUM -

Pour cette expérience, 24 rats mâles sont intoxiqués par du citrate de plutonium à la dose de 1 μCi/Kg par injection et à raison de deux injections intrapéritonéales par semaine pendant quatre semaines.

La cinquième semaine, les animaux sont divisés en quatre lots de six rats ; le premier lot constitue le lot témoin, les trois autres sont traités à huit jours d'intervalle par deux injections intrapéritonéales de DTPA aux doses suivantes :

GROUPE A - ..... 30 mg/Kg
GROUPE B - ..... 15 mg/Kg
GROUPE C - ..... 3 mg/Kg

Le plutonium éliminé dans les urines est dosé chaque jour.

Les résultats sont exprimés sur la courbe n° 18.

L'élimination urinaire quotidienne de plutonium pour un rat a été augmentée sous l'influence du DTPA-Ca.

Le tableau suivant donne les valeurs du rapport : élimination des animaux traités / élimination des animaux témoins pour chaque dose, pendant les 24 premières heures qui suivent les injections.

Groupe	Dose	1ère Injection	2ème Injection
A	30 mg/Kg	59	42
B	15 mg/Kg	39	37
C	3 mg/Kg	12	13

Nous voyons que l'augmentation de l'élimination n'est pas directement proportionnelle à la dose injectée, et que la deuxième injection a une action équivalente à la première, seulement pour les deux plus faibles doses.

Pour la plus forte, l'élimination semble légèrement inférieure.

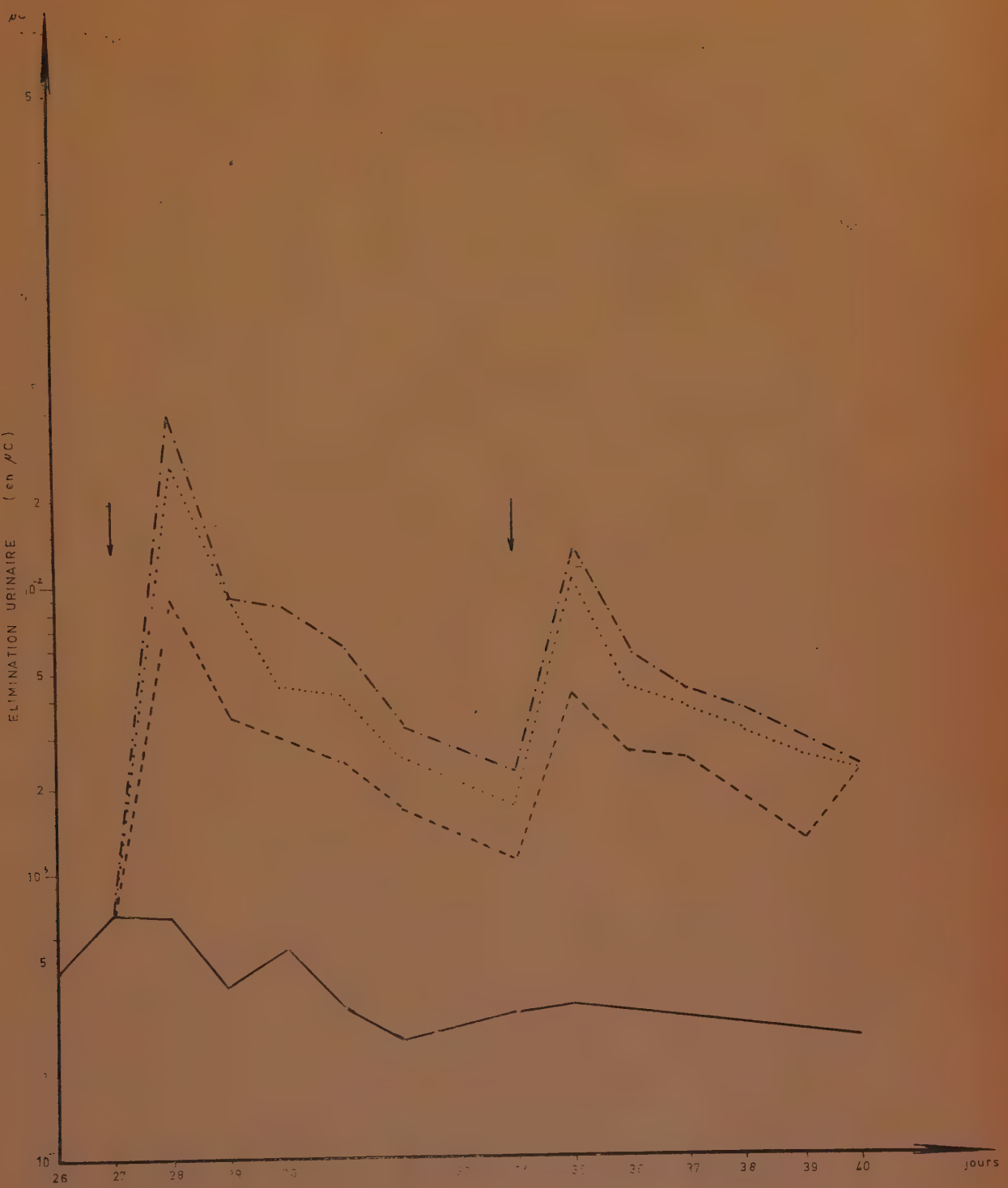


FIG:18- ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de PLUTONIUM (Traitement : 3 Doses differentes de DTPA aux jours indiques par les fléches ⟶ .)

——— Temoins —·—·— 30 mg/kg ..... 15 mg/kg – – – – – 3 mg/kg

- CHAPITRE III - ETUDE SUR LE RAT, DES MODALITES D'ELIMINATION DU CALCIUM APRES INJECTION DE ^{45}Ca-DTPA -

Le problème du calcium a été examiné dans le contexte général, mais il a fait, de plus, l'objet d'une étude particulière, du fait de l'emploi du chélateur sous forme de dérivé calcique.

Nous avons souligné la concordance paraissant exister entre l'élimination du chélateur dans l'urine et celle du calcium.

Il était, à priori, logique de penser que le calcium, ainsi chélaté, était resté lié à la molécule de DTPA pendant tout son transit dans l'organisme, et n'était déplacé que par d'autres atomes métalliques plus solidement complexés par le DTPA.

Pour vérifier, nous avons choisi de préparer du ^{45}Ca-DTPA, de l'injecter au rat, et de suivre la radioactivité de l'urine des fèces et de l'os.

1°) - PROTOCOLE OPERATOIRE -

Nous sommes partis de l'acide diéthylène-triamine-pentacétique en poudre que nous avons solubilisé par addition d'une solution de soude.

Nous avons ajouté ensuite, en quantité équimoléculaire, une solution de chlorure de calcium 45. Nous avons vérifié l'absence de calcium non chélaté par le noir ériochrome.

La solution injectable contenait :

- 19 mg/ml de calcium total dosé par spectrophotométrie de flamme, et
- 11,8 µC/ml de calcium 45,

ce qui correspond à un mélange isotopique de 1 pour $3,14\ 10^8$ atomes de Ca total.

Le calcium 45 est un radioélément, qui se désintègre avec une période de 164 jours, en émettant un rayonnement β^- dont l'énergie est de 0,254 Mev.

La détermination de sa radioactivité se fait grâce à un compteur Geiger-Muller, associé à une échelle de comptage.

Nous avons traité six rats femelles de 180 à 200 gr, par une injection intraveineuse unique de 500 mg par Kg de sel calcique sodique de DTPA. Les animaux ont été maintenus par deux en cage à métabolisme, de manière à recueillir séparément urines et matières fécales. Les excrétats ont été réunis par lots correspondant à l'élimination de 24 heures. Au dixième jour, un sondage a été effectué sur deux animaux quiont été sacrifiés, les fémurs ont été prélevés en vue de l'analyse chimique.

2°) - RESULTATS -

A - ELIMINATION URINAIRE

L'élimination urinaire de calcium stable est mesurée par spectrophotométrie de flamme. La valeur

moyenne chez les animaux n'ayant pas reçu de DTPA est de 0,35 ± 0,05 mg pour un rat par 24 heures.

L'examen du tableau n° 8 qui résume les résultats obtenus sur les animaux traités, montre que l'élimination du premier jour est dix fois supérieure à celle des témoins ; qu'elle correspond à 47% de la quantité de calcium injecté, et qu'elle redevient sensiblement normale dès le deuxième jour.

L'élimination du calcium 45 se prolonge quelques jours ; le pourcentage éliminé au premier jour est très inférieur à celui du calcium stable (tableaux n° 9 & 10).

B - ELIMINATION FECALE -

L'élimination du calcium stable, par les animaux témoins est très variable d'un jour à l'autre. Le calcium 45 permet de calculer le pourcentage excrété qui est de 4,43% le premier jour et diminue régulièrement.

C - FIXATION OSSEUSE -

Le bilan moyen de l'élimination urinaire et fécale du calcium 45, au septième jour met en évidence le faible pourcentage excrété.

Il nous a donc paru indispensable de faire un sondage parmi les animaux, pour mettre en évidence une éventuelle fixation osseuse du métal injecté sous une forme chélatée.

Les fémurs prélevés ont été minéralisés, les cendres reprises par de l'acide chlorydrique concentré.

Le comptage de l'activité a donné les résultats suivants :

	1er Rat	-	2ème Rat
- Activité fixée au niveau du squelette :	2,5 µCi		1,33 µCi
- % de la dose injectée ..... :	55		30

Faire une moyenne sur ces résultats est illusoire. Nous nous contenterons de conclure que la fixation osseuse est très supérieure à l'excrétion.

C'est un résultat de cet ordre qu'ont publié BELLIN et LASZLO, qui eux ont étudié ce métabolisme chez l'homme (113).

ELIMINATIONS URINAIRE et FECALE de CALCIUM

rapportées à 1 rat par périodes de 24 heures

JOURS	URINE		Matières Fécales	
	Ca en mg	Ca^{45} en µc	Ca en mg	Ca^{45} en µc
1er	4,25	0,97	38,4	0,20
2ème	0,37	0,04	37,6	0,17
3ème	0,40	0,01	21,6	0,09
4ème	0,32	<0,01	112	0,08
5ème			68,3	0,04
6ème			58,5	0 04

TABLEAU N 2

ELIMINATIONS URINAIRE et FECALE de CALCIUM

Exprimées en % de la dose injectée

JOURS	URINE		Matières Fécales	
	Ca stable	Ca 45	Ca stable	Ca 45
1 er	47	21,4	-	4,43
2 ème	-	0,9	-	3,82
3 ème	-	0,47	-	2,05
4 ème	-	0,5	-	1,70
5 ème			-	0,84
6 ème			-	0,78

TABLEAU N 3

BILAN RAPIDE DE L'EXCRETION DU CALCIUM 45

1° jour	urines	21,40 %
	matières fécales	4,43 %
2° jour	urines	0,90 %
	matières fécales	3,82 %
3° jour	urines	0,47 %
	matières fécales	2,05 %
4° jour	urines	0,50 %
	matières fécales	1,70 %
5° jour	matières fécales	0,84 %
6° jour	matières fécales	0,78 %
		36,89 %

TABLEAU N° 6

Q U A T R I E M E P A R T I E

- ETUDE DE LA TOXICITE DU D.T.P.A. -

- CHAPITRE I - TOXICITE AIGUE -

La toxicité aigüe du D.T.P.A. a été caractérisée par la DL.50.

La solution a été administrée par voie intrapéritonéale à différents lots de 5 à 30 souris femelles d'un poids compris entre 25 & 30 gr.

Dans aucun cas le volume n'a été supérieur à 1,5 ml. Le nombre de morts a été compté 24 heures après l'injection.

La voie intrapéritonéale a été choisie pour la simplicité de manipulation. Kolmer (103) a montré que la toxicité du produit injecté varie avec la voie d'introduction.

Par voie intrapéritonéale, elle est de 1 à 4 fois inférieure à celle que l'on constate pour la voie intraveineuse, et de 1 à 4 fois supérieure à celle observée pour la voie intramusculaire. La diffusion est presque aussi rapide que par la voie intraveineuse, et cette différence de toxicité pourrait être imputée au pouvoir détoxicant du foie prépondérant dans ce cas.(104)

La représentation graphique des résultats pose un problème d'ordre statistique. La courbe obtenue en portant en abcisse la dose du chélateur et en ordonnée les pourcentages d'animaux morts, est une courbe sigmoïde qui représente l'intégrale d'une distribution normale de Gauss, et son établissement nécessite de travailler sur un grand nombre d'animaux. Elle a été particulièrement étudiée par Trévan (105).

Il est possible, comme l'ont montré Gaddum (106) et Bliss (107) d'obtenir une droite en utilisant comme échelle des abcisses une échelle logarithmique, et comme échelle des ordonnées une échelle graduée en unités "probit".

Ces unités sont obtenues en assimilant les fréquences cumulées à des pourcentages de probabilités gaussiennes (108).

Dans ce cas, le nombre d'animaux intoxiqués peut être très diminué.

Nous avons utilisé pour la détermination de la DL.50

le graphique "logarithme-probabilité" proposé par Bonet Maury (109).

- RESULTATS -

Nous avons effectué une première expérience sur 100 souris réparties en cinq groupes inégaux de 10,20,30,30,10 animaux auxquels nous avons injecté des quantités de DTPA correspondant respectivement à 1, 2, 3, 4 et g/Kg.

Nous n'avons pas observé de mortalité dans aucun des groupes.

Dans une deuxième série d'essais, nous avons injecté des doses beaucoup plus fortes correspondant respectivement à 7, 8, 9 et même 12,5 g/Kg. Nous avons obtenu, dans tous les cas, 100% de mortalité.

Les limites étant déterminées, nous avons alors utilisé pour chaque point, 10 animaux et effectué 7 essais pour des doses comprises entre 5 et 7 g/Kg. Les résultats récapitulatifs correspondant à ces essais peuvent être résumés dans le tableau n° 7.

Le tracé de la courbe "logarithme-probabilité" nous a permis de chiffrer la DL.50 à 5,7 g/Kg (graphique n° 19). La valeur trouvée par Catsch (86) est de 2,8 g/Kg pour une administration intraveineuse.

Dans le cadre des différents essais que nous avons effectués, et qui ne sont pas tous mentionnés dans le tableau n° 7, nous avons remarqué que des souris jeunes présentaient un pourcentage de mortalité inférieur.

Dose injectée	Nbre animaux	PPoids moyen	% mortalité
1	10	29	0
2	20	29,5	0
3	30	29	0
4	30	30	0
5	10	29	0
5,3	10	27	10
5,5	10	24,5	30
6	10	24,5	60
6,5	10	25	80
6,7	10	27	100
7	5	24,5	100
8	15	26	100
9	16	24	100

- TABLEAU N° 7 -

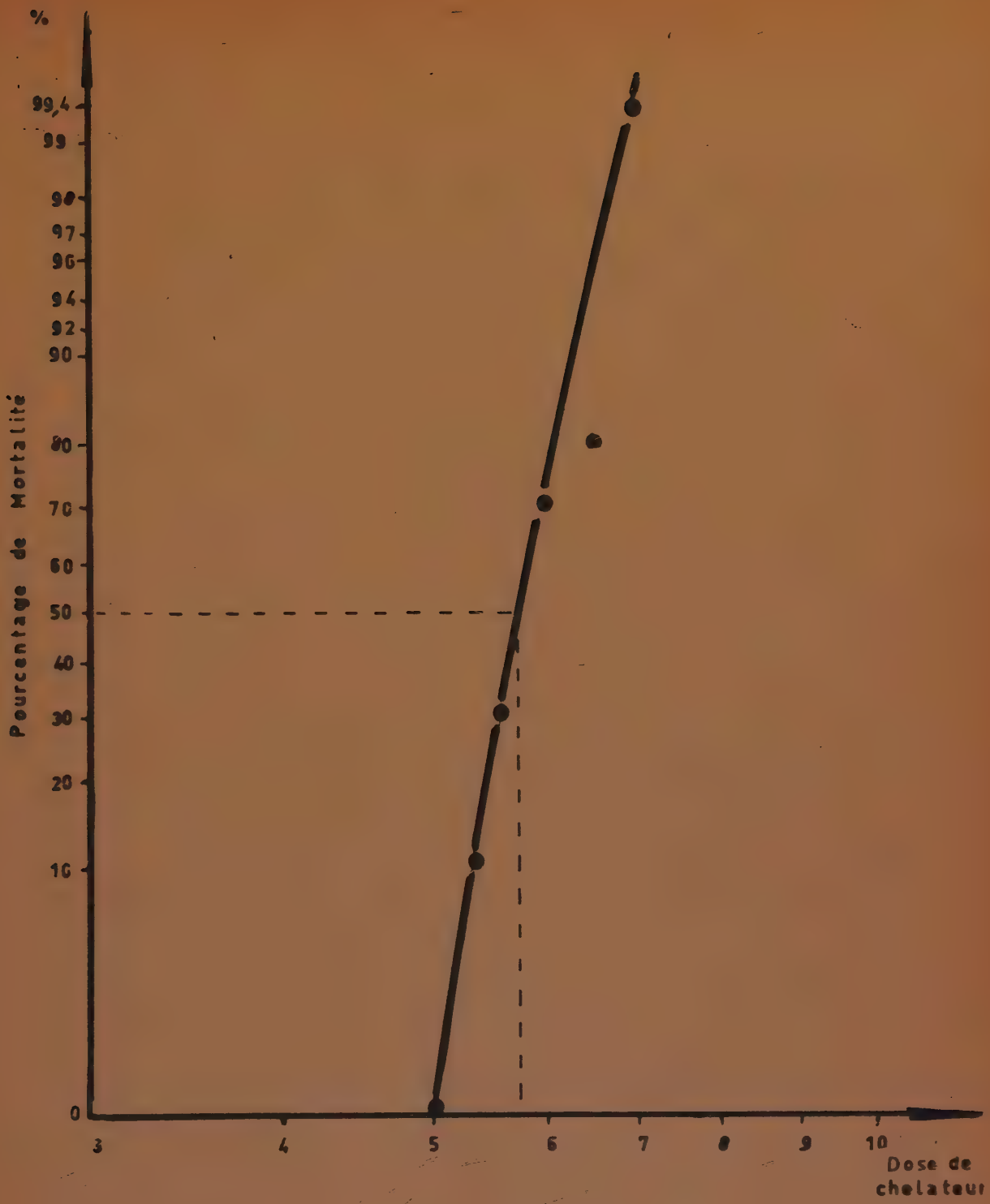


FIG 19 COURBE de TOXICITE AIGÜE

COORDONNES du Papier Log-Probabilite d'après P BONNET-MAURY

Il nous a paru, dès lors, intéressant d'effectuer un nouvel essai sur des souris de poids moyen très inférieur, compris entre 14 et 15 grammes.

Les résultats obtenus ont été résumés dans le tableau suivant :

Dose injectée	Nombre d'animaux	Poids moyen	% mortal.
6 mg/g	10	15	0
	10	24,3	60
7 mg/g	10	14,2	0
	5	24,6	100
8 mg/g	10	15,8	10
	15	26	100

Dans tous les cas, les animaux ayant reçu des doses entraînant leur mort, ont présenté des phénomènes toxiques dans un délai de trois heures à trois heures trente.

Ils montraient au moment de leur mort, des contractures avec raideur des membres et aspect caractéristique de la colonne en dôme.

A l'autopsie, leurs reins étaient gonflés et blanchâtres, et leur cerveau hémorragique.

- CHAPITRE II - TOXICITE CHRONIQUE -

1°) - PROTOCOLE OPERATOIRE -

A - CONDITIONS D'ADMINISTRATION :

En raison des possibilités d'administration des chélateurs par voies intraveineuse et orale, nous avons tenu à mener de pair les différentes parties de cette étude de toxicité chronique par ces deux voies d'introduction.

L'administration de Ca-DTPA a porté sur une période minimale de 12 semaines ; elle a été effectuée sur le rat, animal d'expérience choisi en raison de sa taille suffisamment petite pour permettre la mise en expérimentation d'un nombre statistique valable, et suffisamment grande pour autoriser la récolte d'un volume d'urine satisfaisant pour la mise en oeuvre des dosages envisagés.

a) Administration par voie intraveineuse :

L'administration par voie intraveineuse excluant le principe d'injections quotidiennes, nous avons été amenés à injecter tous les quatre jours, en une seule fois, la quantité qui aurait été injectée en quatre fois, si les injections avaient été quotidiennes.

En ce qui concerne le choix de la dose injectée nous avons estimé que multiplier par 10 la dose/Kg susceptible d'être utilisée en thérapeutique était raisonnable.

Or, nous avions une connaissance approximative de cette dose, due au fait que ce produit possède une toxicité générale et une similitude d'action qui l'apparentent à l'EDTACa qui a été à l'origine de nombreux travaux, en France notamment, en particulier à la Faculté de Pharmacie de Paris.

Compte tenu de ces différents éléments d'appréciation, nous avons donc été conduits à injecter une dose de 600 mg/Kg tous les 4 jours, aux animaux en expérience.

Enfin, nous avons tenu à injecter un volume suffisamment grand (entre 0,4 et 0,7 ml) pour pouvoir être mesuré avec une bonne précision au moyen d'une seringue Hamilton.

Nous avons opéré sur 18 rats Wistar mâles adultes d'un poids moyen voisin de 200 g. répartis en trois groupes de 6 : un groupe témoin (T) et deux groupes (A et B) traités. Le groupe témoin a reçu une solution de soluté physiologique isotonique au lieu de Ca-DTPA.

b) Administration par voie buccale :

Dans cette série d'expériences, nous avons fait ingérer par sondage oesophagien, 5 fois par semaine, le Ca-DTPA à raison de 300 mg/Kg. Les animaux ont été maintenus en survie dans les conditions décrites ci-aprés.

B - CONDITIONS DE SURVIE DES ANIMAUX :
****

Les animaux ont été groupés par deux dans des cages à métabolisme munies d'un dispositif permettant de recueillir les urines en les séparant des matières fécales.

Ils ont eu constamment de l'eau à leur disposition et ils ont été alimentés en "provende" (Réf. M 25 des Ets Piètrement) solide, seulement deux heures par jour.

En effet, pendant ce temps, les urines n'étaient pas recueillies pour éviter toute souillure par des débris alimentaires, si bien qu'en faitles dosages ont été effectués sur des urines de 22 heures. Il faut noter cependant, que nous avons pu constater que pendant leur repas, les animaux n'émettent que peu ou pas d'urine (Fig. 1)

Les urines de chaque période de 22 heures ont été regroupées chaque jour par lots correspondant à six rats de chacun des trois groupes et leur volume complété à 100 ml.

Nous avons donc disposé, chaque jour et pour chaque lot, de 100 ml d'une solution correspondant à l'élimination urinaire de 6 rats pendant 22 heures.

Les animaux ont été sacrifiés 41 jours après le début de l'expérience.

2°) - INCIDENCE SUR LA CROISSANCE DES ANIMAUX -

A) Etablissement des courbes de poids -

Les rats ont été pesés tous les 4 puis 8 jours. Les courbes ont été tracées à partir des moyennes de poids des animaux de chaque série.

B) Variations pondérales des animaux -

- Voie intraveineuse : Les variations se trouvent résumées par les courbes qui mettent en relief une chute substantielle de poids aux environs du treizième jour (Fig.20).

Mais cette chute est générale et se retrouve également dans le lot des animaux témoins. Il est donc vraisemblable que cette variation pondérale n'a pas de signification particulière et est dûe aux conditions anormales de survie des animaux maintenus en cage à métabolisme.

Ensuite les deux courbes présentent une remontée presque parallèle jusqu'au 45ème jour environ. A partir de cette date, il semble que le poids des animaux témoins augmente jusqu'au 60ème jour. L'expérience se termine au 81ème jour.

- Voie buccale : Nous n'avons pas observé de variations significatives entre les poids des animaux traités et ceux des témoins (Fig. 21).

3°) - INFLUENCE SUR L'ELIMINATION DES CATIONS PHYSIOLOGIQUES -

Le fait que la carence prolongée en oligoéléments rique d'être à l'origine de véritables lésions biochimiques a orienté notre étude de la toxicité du DTPA-Ca vers l'exploration de l'élimination urinaire de certains métaux tels que le zinc et le cuivre.

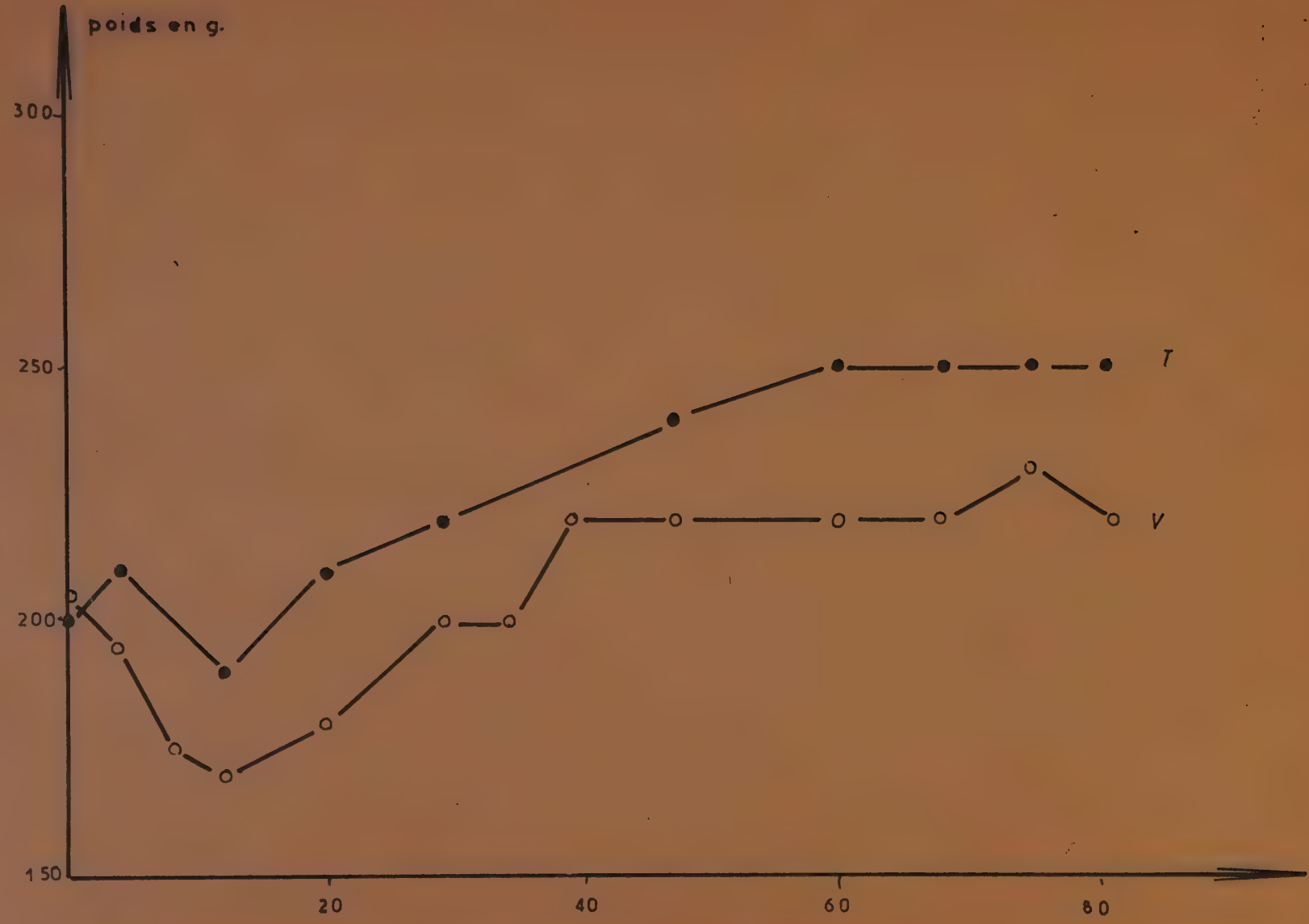


FIG: 20 - COURBE de POIDS des ANIMAUX ayant reçus des injections I.V. de DTPA Ca

T = Témoins V = Animaux Traités

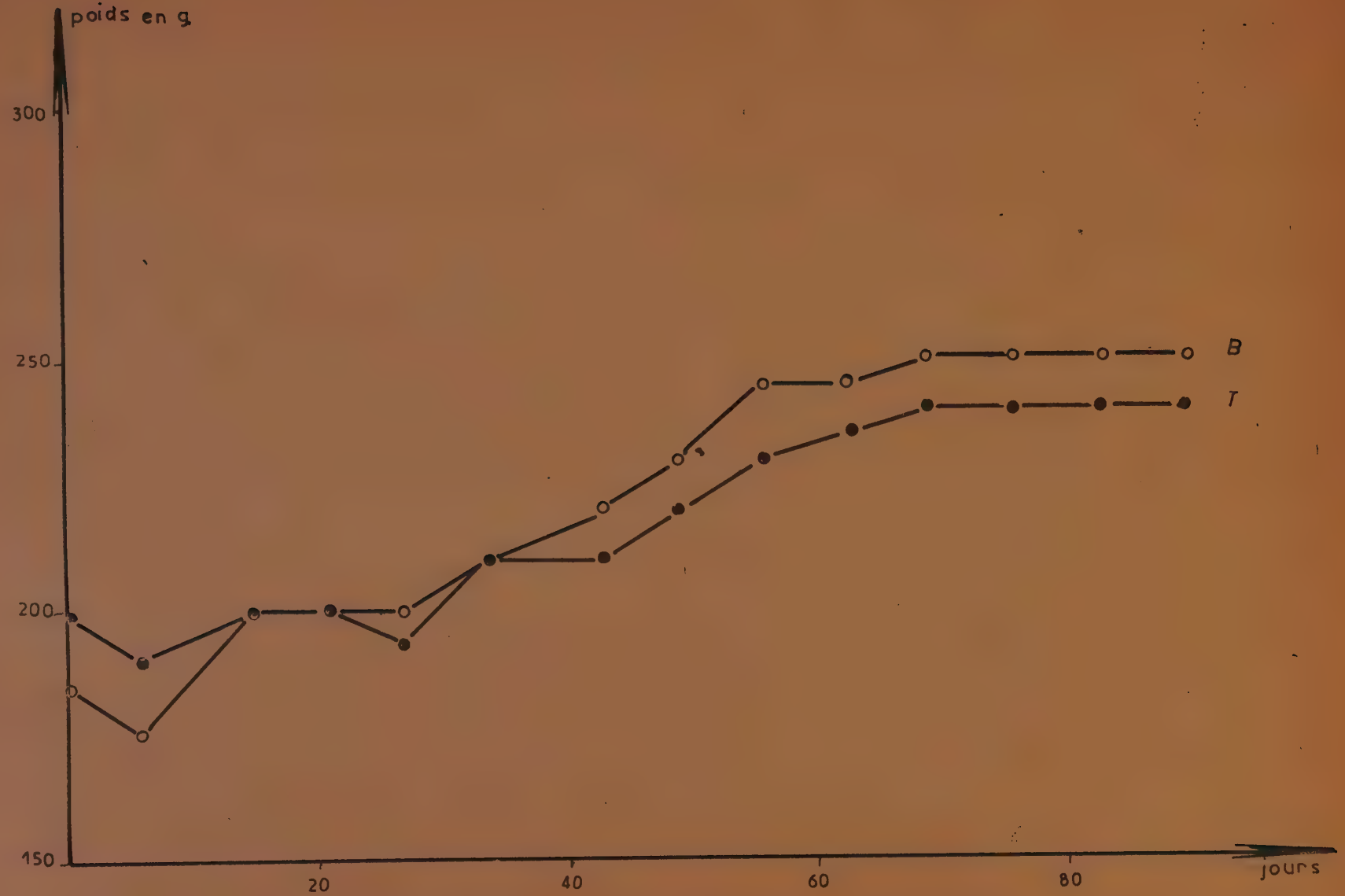


FIG: 21 - COURBE de POIDS des ANIMAUX Traites par voie buccale

T = Témoins B = Animaux Traites

A - ETUDE ANALYTIQUE DU PROBLEME -

****

- Méthode de dosage du calcium -

Par photométrie de flamme sur une dilution appropriée de la solution.

- Méthode de dosage des oligo-éléments -

Nous avons utilisé dans un premier temps une méthode d'analyse aussi générale que la spectrographie d'émission en ultra-violet afin de mettre en une seule fois en évidence tous les métaux contenus dans une prise d'essai.

Toutefois, afin d'éliminer l'interférence gênante des métaux alcalins et alcalino-terreux sur la qualité de l'émission spectrale, nous avons fait précéder le dosage spectrographique proprement dit d'un enrichissement sélectif par extraction chloroformique du liquide de minéralisation de l'échantillon à analyser en présence d'acide diéthyldithiocarbamique puis de dithizone.

L'emploi conjugué de ces deux réactifs permet, en effet, d'extraire sélectivement, à pH convenable, la plupart des métaux dits "lourds" et de certains autres comme le manganèse dont l'ensemble couvre pratiquement toute la gamme des oligo-éléments métalliques.

La technique utilisée peut être résumée ainsi :

- une prise d'essai de 50 ml de la solution correspondant aux urines journalières de chaque lot de six rats est minéralisée par voie humide en présence d'acide nitrosyl-sulfurique.

- le résidu de minéralisation est repris à l'eau distillée, neutralisé et amené à pH 9 par addition d'ammoniaque en présence de citrate d'ammonium.

- après addition de diéthyldithiocarbamate de potassium, le précipité formé est extrait en plusieurs fois par le chloroforme ; les deux dernières extractions étant réalisées avec une solution chloroformique de dithizone.

- les liqueurs chloroformiques sont évaporés à sec à la température ordinaire et le résidu repris par quelques millilitres d'une solution chloroformique d'acide diéthyldithiocarbamique et de dithizone et le volume complété à 5 ml par le chloroforme.

- 1 partie aliquote de cette solution comprise entre 0,1 et 1 ml est déposée à la pipette sur la lisière du papier filtre sans cendres (Durieux bande bleue) inséré dans un tambour rotatif du type "Berton".

- le tambour est monté sur un spectrographe UV 120 de la S.G.O alimenté en courant continu par un générateur DURR permettant de réaliser la combinaison suivante : 12 C - X 89, ce qui correspond à une étincelle de capacité 6670 F et d'inductance 320 H.

Le spectre obtenu est d'abord dépouillé

qualitativement au spectroprojecteur HUET et les raies intéressantes photométrées sur un densitomètre KIPP par rapport à une raie étalon de Béryllium, préalablement ajouté en solution aqueuse lors de l'étalement de la solution chloroformique sur le papier.

Dans le cas du cuivre et du zinc qui se sont révélés être, après l'application de cette technique spectrographique, les deux oligo-éléments les plus intéressants à envisager, nous avons jugé utile, compte tenu de la précision relativement médiocre de la méthode spectrographique, de mettre en oeuvre une technique comportant l'utilisation de la polarographie à tension carrée.

Dans ce dernier cas, nous avons effectué le dosage polarographique d'une partie aliquote de liquide d'enrichissement chloroformique déjà utilisé en vue du dosage spectrographique.

La technique résumée est la suivante :

- 2 ml de la solution chloroformique sont évaporés à sec et le résidu repris au bain de sable par une goutte de HNO_3 concentré et une goutte de perhydrol.

Après évaporation à sec, et reprise dans les mêmes conditions, le résidu sec est repris par 10 ml HCl à 0,1 N. Cette solution est directement polarographiée et les concentrations de zinc et de cuivre appréciées par la méthode de surcharges. L'appareil utilisé était le Merwyn Harwell, Square Wave Polarograph MK III et les potentiels de réduction observés étaient de - 0,22 V pour le cuivre et de - 1,06 V pour le zinc.

- Méthode de dosage de l'acide diéthylénetriaminepentacétique -

Elle utilise le principe selon lequel les ions Nickel ajoutés en excès en milieu tamponné déplacent les autres métaux de leur complexe, à l'exception du fer.

L'excès de Nickel non complexé est éliminé par précipitation à la diméthylglyoxime puis le Nickel complexé est libéré par acidification et dosé colorimétriquement par le dithiooxalate de potassium.

Cette réaction colorée a été décrite à propos de l'EDTA par Darbey [110]

Une application de cette méthode au DTPA a été publiée très récemment par Bokowki et Hammond [111]

B - RESULTATS OBTENUS APRES ADMINISTRATION PAR VOIE INTRAVEINEUSE -

- Elimination du calcium comparativement à celle du chélateur -

L'examen de la figure 22 qui reproduit les éliminations du calcium en fonction du temps montre des décharges urinaires successives correspondant aux urines des 24 premières heures consécutives aux injections.

Bien qu'il soit impossible de prétendre déduire de la simple élimination urinaire que le bilan calcique des animaux traités est positif ou négatif, il est cependant intéressant de souligner que l'apport de calcium sous forme de DTPA correspond à environ 10 mg par animal alors que l'élimination urinaire journalière maximale consécutive

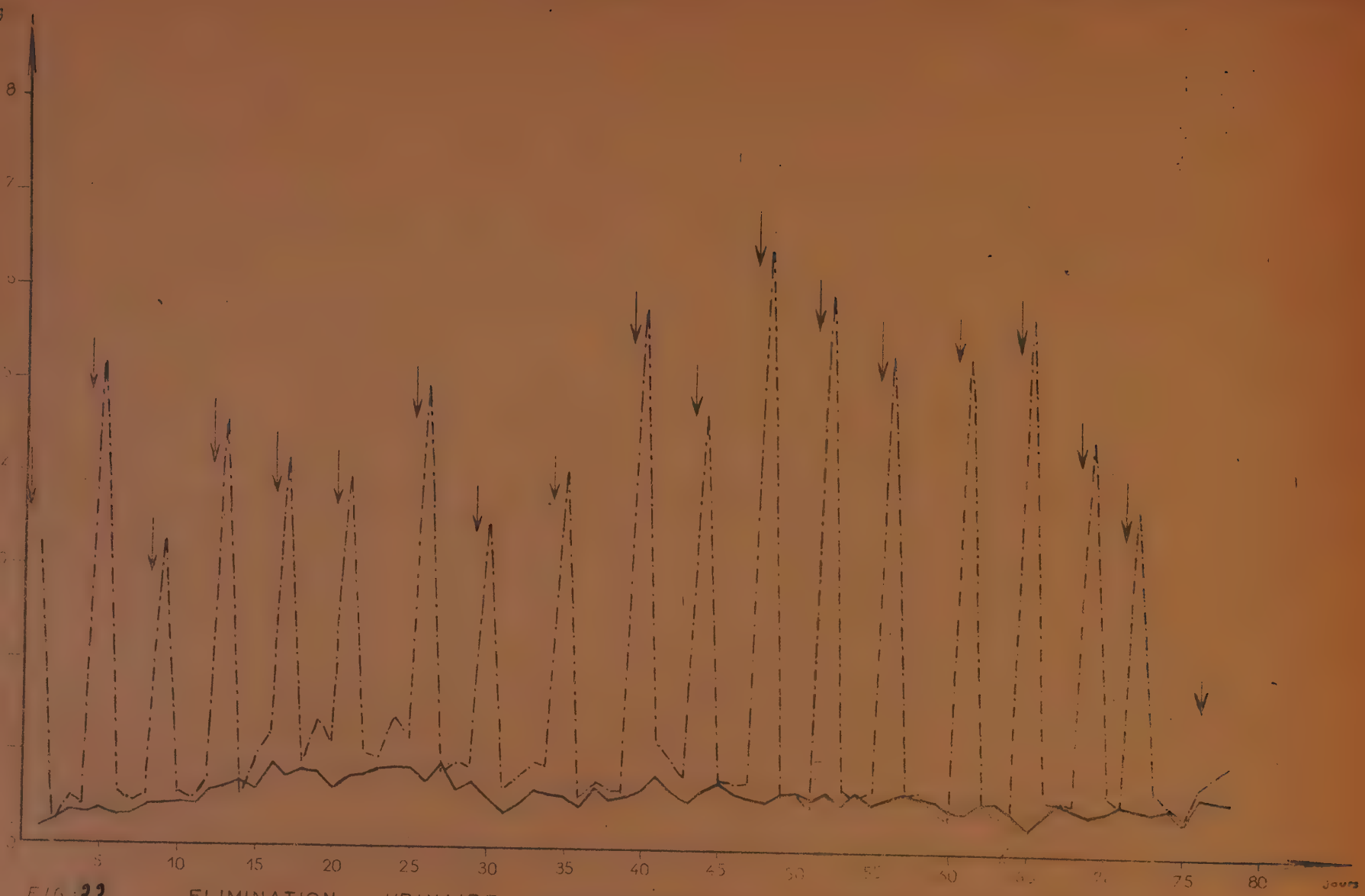


FIG. 22 ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE du CALCIUM, les rats ayant reçu une injection intra-veineuse de DTPA aux jours indiqués par les flèches.

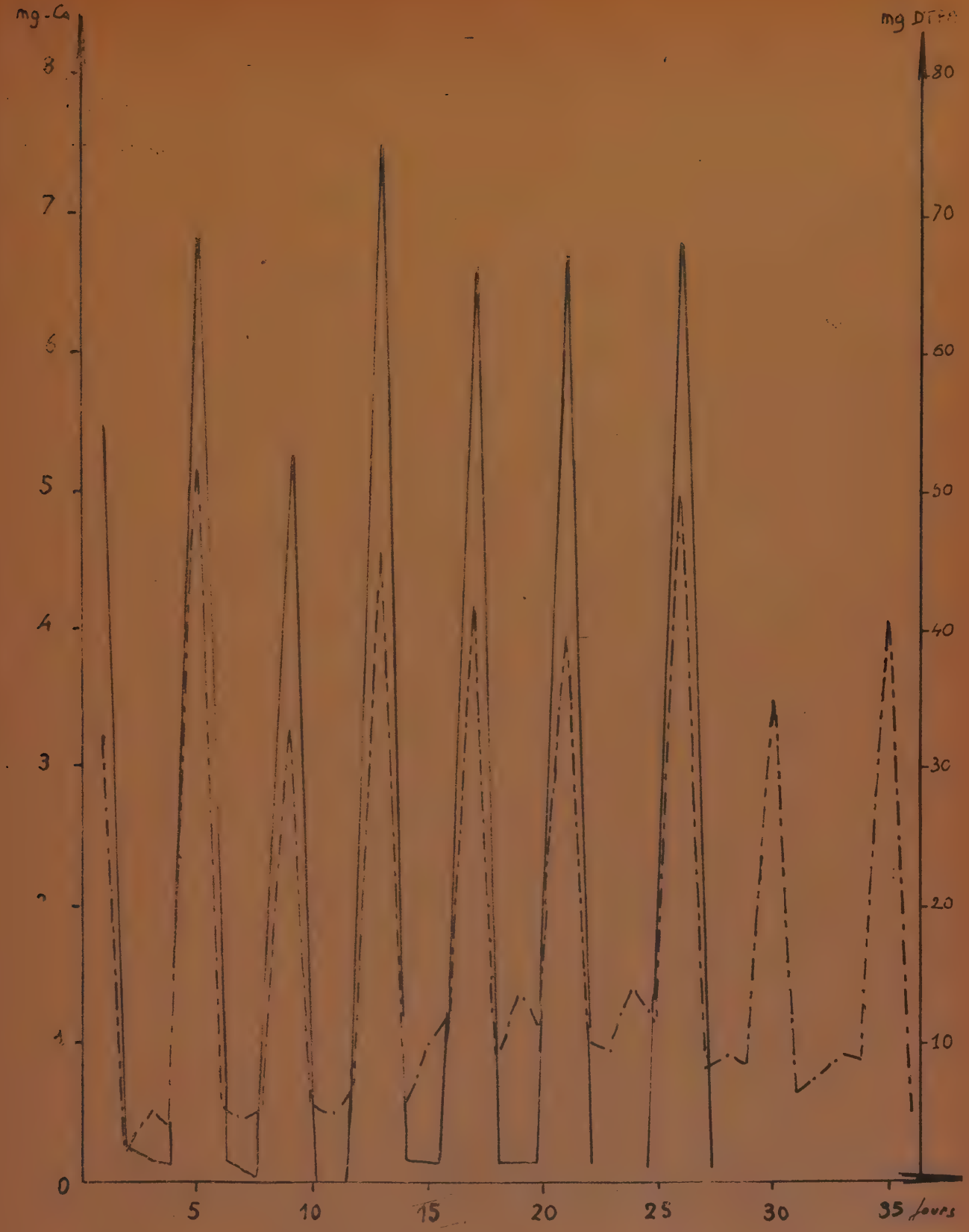


FIG 23 ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE de DTPA et de Ca

DTPA ——————

Ca — · — · —

à l'injection d'environ 5 mg.

C'est pour apporter plus de poids à cette hypothèse que nous avons également effectué des dosages de chélateur, lui-même dans les urines.

Effectivement, les quelques dosages d'acide diéthylènetriaminepentacétique que nous avons effectué sur ces urines et dont les éliminations sont reproduites ainsi que celles du calcium sur la figure 23, montrent bien que malgré l'uniformité de la dose de Ca-DTPA injectée, les inégalités observées dans l'élimination du calcium sont en rapport avec celles de l'acide diéthylènetriaminepentacétique.

On est tenté d'y voir la preuve que le calcium éliminé ne provient pas des réserves de l'organisme mais du produit injecté dont on sait, par ailleurs, la grande rapidité d'élimination.

- Elimination des oligo-éléments -

Le dépouillement, sur le seul plan qualitatif de tous les spectrogrammes obtenus sur chaque lot d'urines, n'a pratiquement permis la mise en évidence que des oligo-éléments suivants :

Zn, Cu, Fe, Mn.

Les raies du fer et du manganèse étant trop faibles et d'apparition trop irrégulière pour être photométrées, nous avons limité nos déterminations quantitatives au Cuivre et Zinc.

De plus, ayant pu, dans le cas du dosage de ces deux métaux, bénéficier en cours

d'expérimentation de la mise en service d'un polarographe à tension carrée.
nous avons reproduit, sur les graphiques, la moyenne entre les chiffres obtenus par les deux méthodes.

Dans le cas du cuivre, les éliminations observées chez les animaux traités sont modérément supérieures à celles des témoins.

Leurs maxima sont, en importance, relativement homogènes et localisés étroitement aux urines des 24 premières heures qui suivent l'injection (figure 24).

Dans le cas du zinc, les éliminations sont beaucoup plus importantes chez les animaux traités, comparativement aux témoins, et elles correspondent à des pics beaucoup plus irréguliers bien qu'étroitement localisés également aux urines des 24 premières heures suivant l'injection (Fig. 25).

Un résultat comparable avait été obtenu par Willar, Fischer, Mawson, Elcoate dans leur étude de l'influence de l'EDTA sur l'élimination urinaire du Zn chez le rat [112]

Afin de mieux évaluer l'importance de l'élimination de ces deux oligo-éléments chez l'animal traité comparativement à celle observée normalement chez l'animal témoin, nous avons calculé les moyennes de ces éliminations portant sur l'ensemble de l'expérimentation, les chiffres qui ont été reproduits dans le tableau suivant montrent qu'effectivement l'élimination moyenne du cuivre est

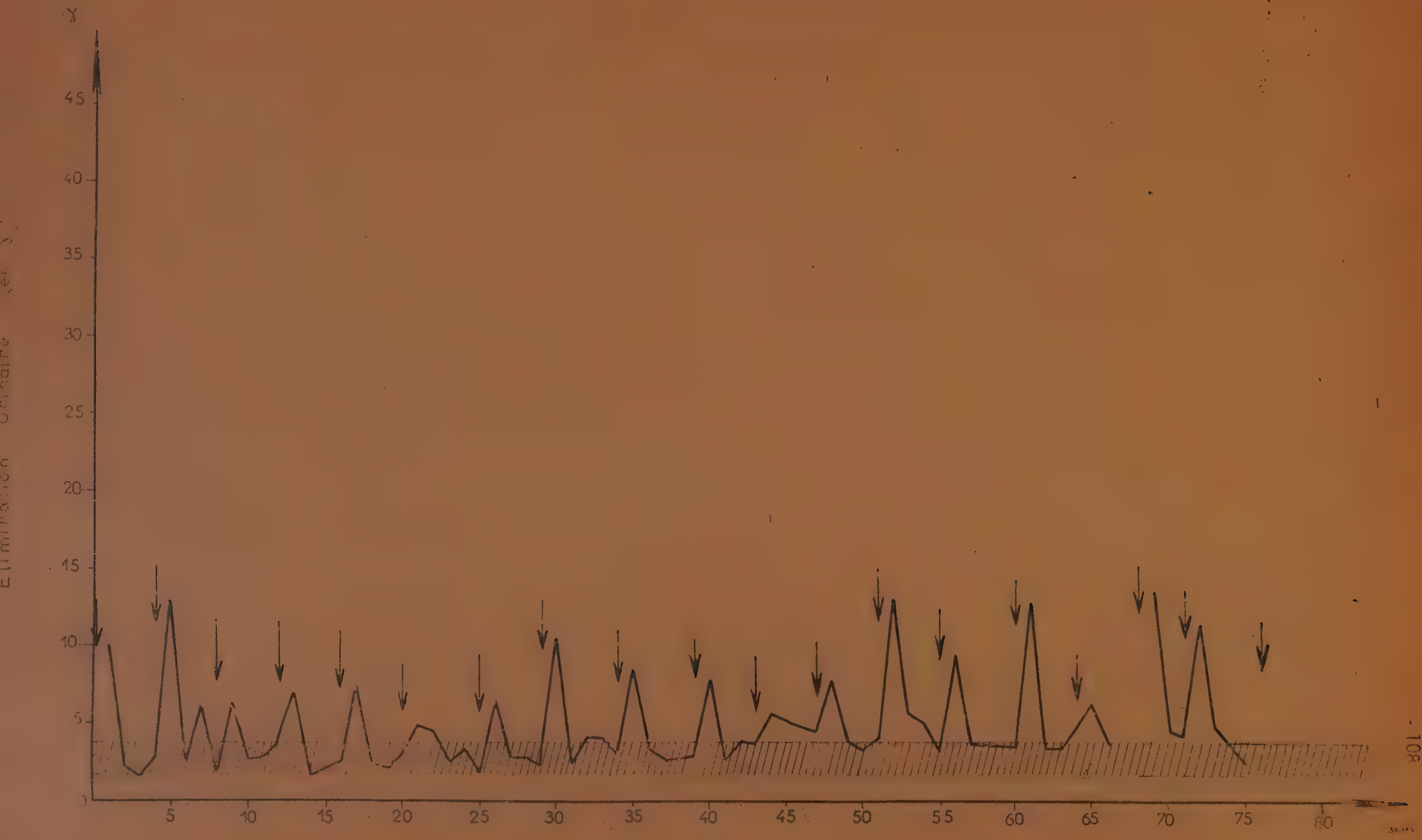


FIG: 24 _ ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE du CUIVRE, les rats ayant reçu une injection intra-veineuse de DTPA aux jours indiqués par les fléches.

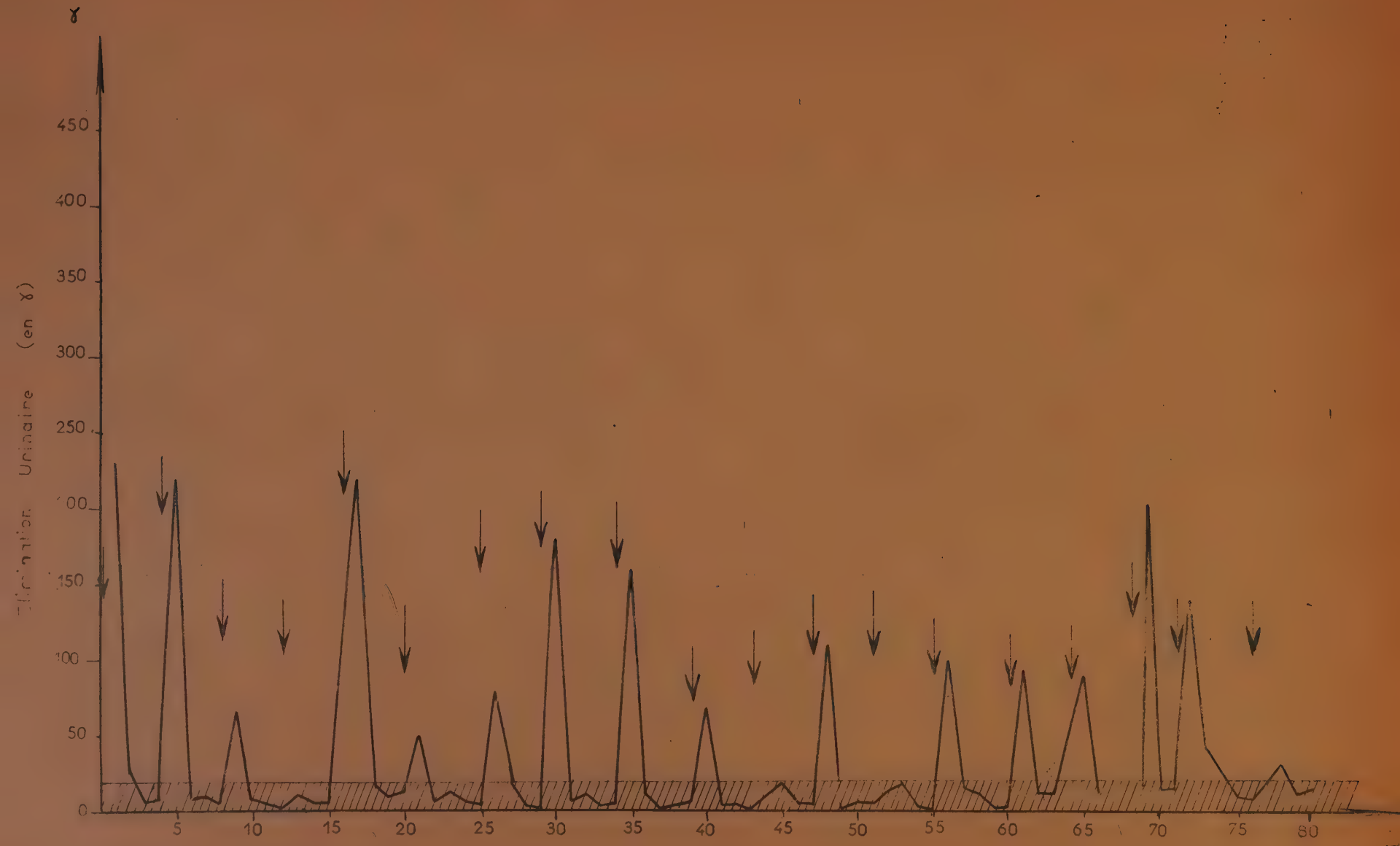


FIG : 25 - ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE du ZINC, les rats ayant reçu une injection intra-veineuse de DTPA aux jours indiqués par les fléches.

relativement modeste alors que celle du zinc est beaucoup plus importante et même presque décuplée.

	Témoins	Animaux traités
Calcium	570	1.717
Cuivre	3	5,5
Zinc	4,3	37

C - RESULTATS OBTENUS APRES ADMINISTRATION PAR VOIE ORALE -

- Calcium -

Là encore, les deux courbes sont pratiquement superposables et il n'apparait, à la suite des ingestions, aucune élimination de calcium supérieure à la normale.

Il semble que le calcium apporté par la solution de Ca-DTPA n'intervient pas dans l'élimination urinaire (Fig. 26)

- Zinc et Cuivre -

Le même résultat apparait.

Le produit ne parait pas être résorbé par voie buccale et, si sa toxicité rénale est ainsi hors de cause,

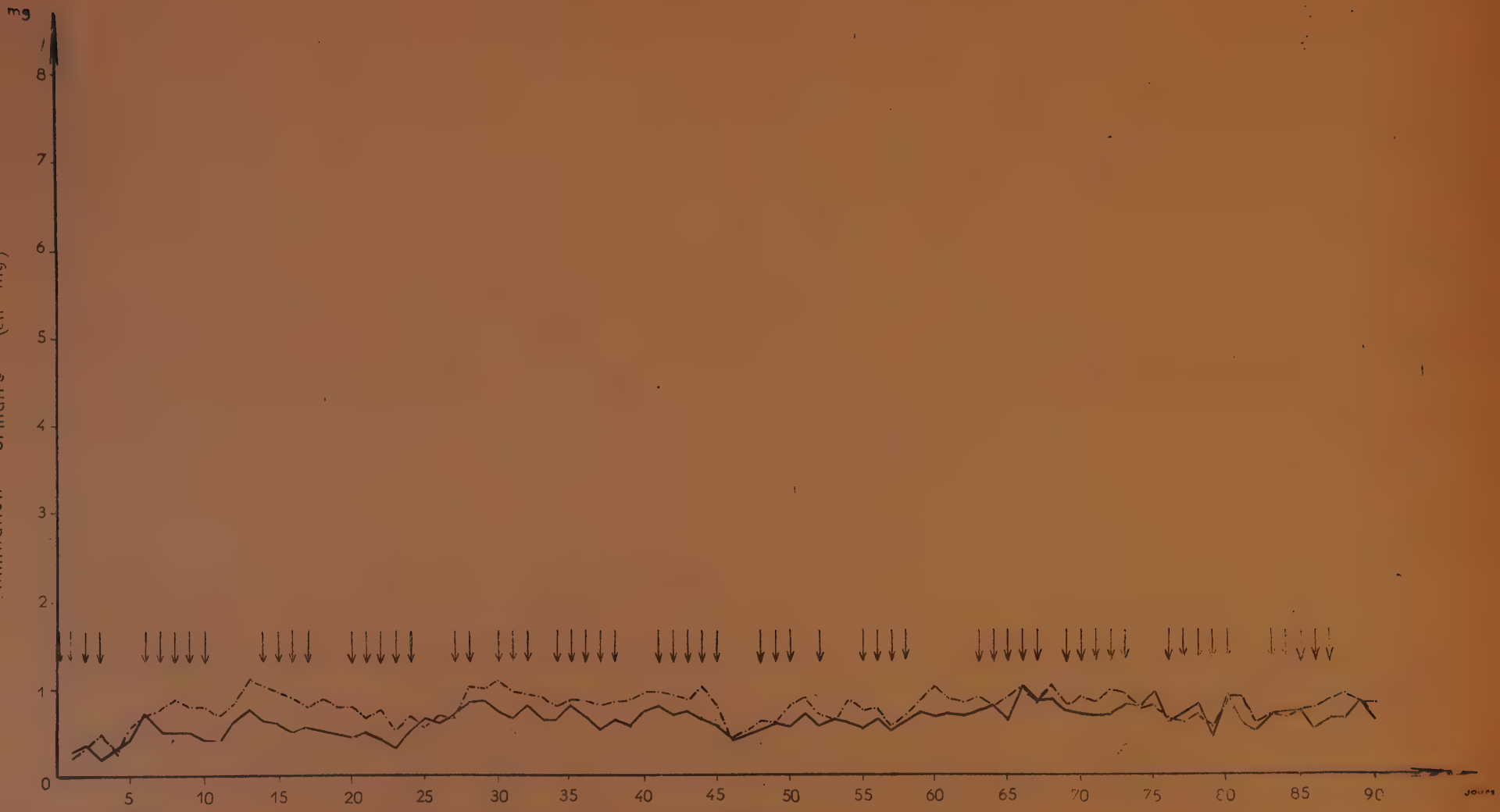


FIG: 26 ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE du CALCIUM

Les rats ayant reçu une solution de DTPA par voie buccale aux jours indiqués par les fléches

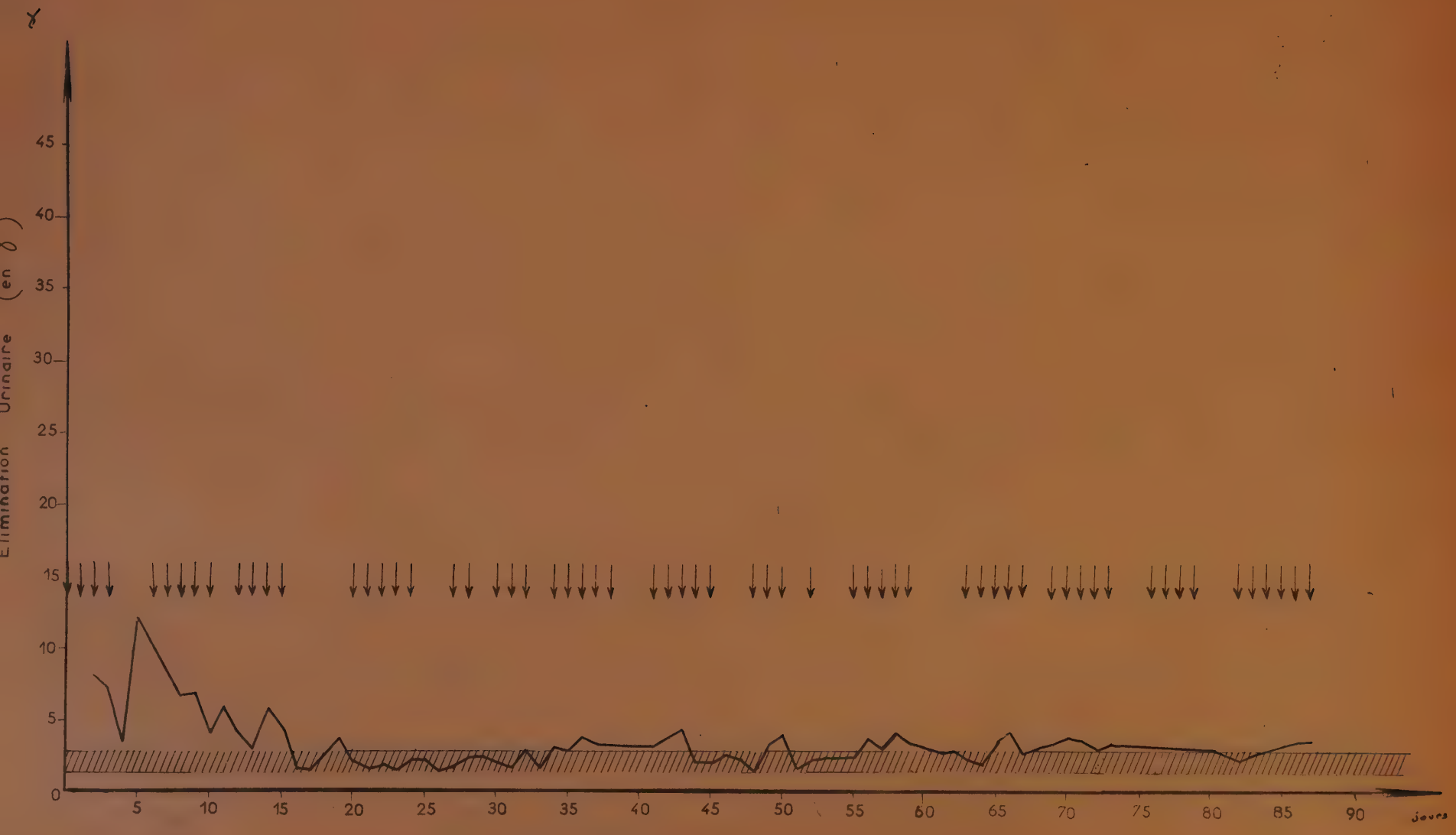


FIG : 27 ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE du CUIVRE.

Les rats ayant reçu une solution de DTPA par voie buccale aux jours indiqués par les fléches

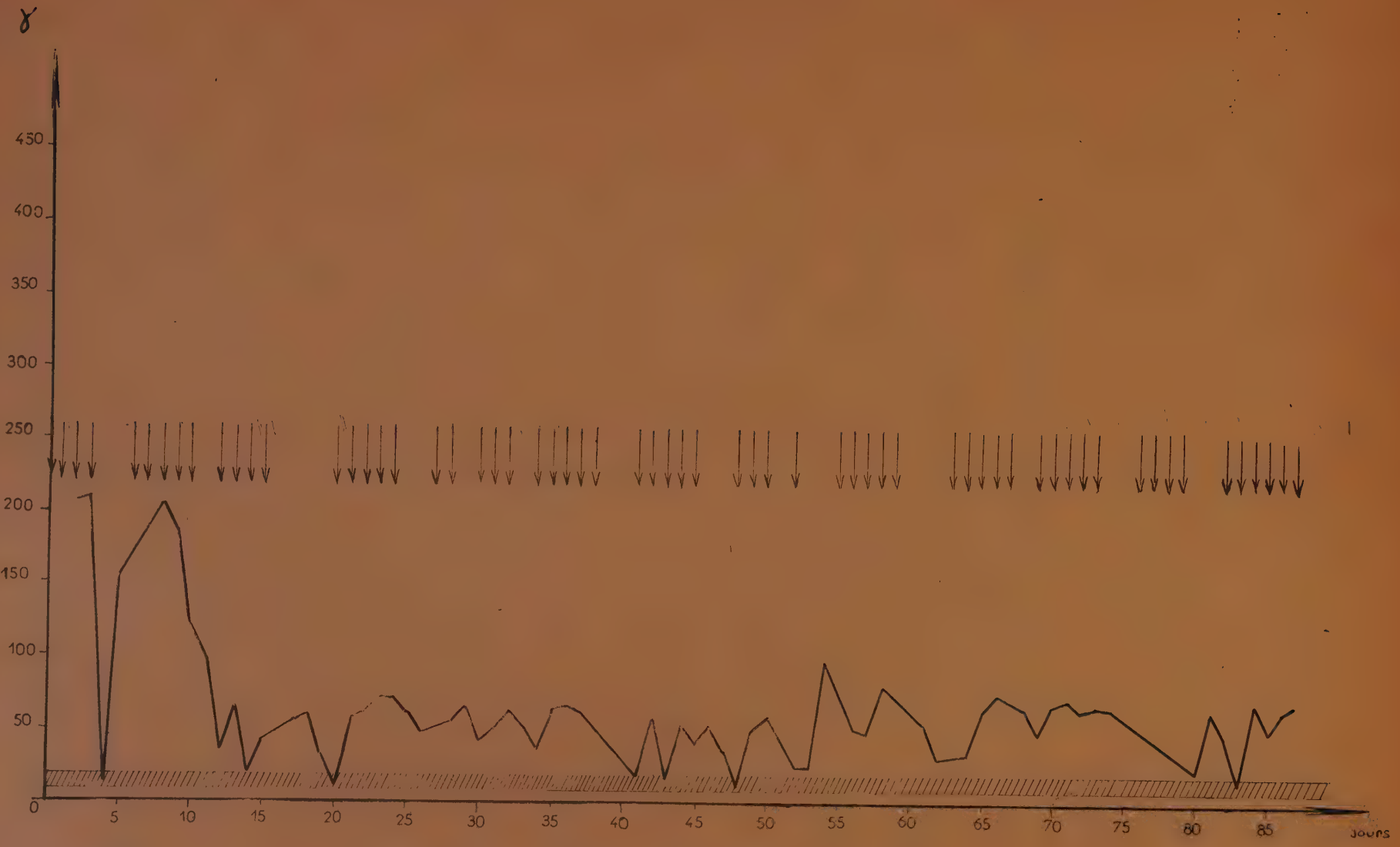


FIG : 28 ELIMINATION URINAIRE QUOTIDIENNE du ZINC

Les rats ayant reçu une solution de DTPA par voie buccale aux jours indiqués par les fléches.

il ne semble pas provoquer de troubles au niveau du système gastro-intestinal (Fig. 27 & 28)

3°) - ETUDES DES ALTERATIONS HISTOLOGIQUES -

A - PROTOCOLE OPERATOIRE -

Les animaux ont été sacrifiés en fin d'expérience par inhalation prolongée d'éther.

Les principaux organes, en général et systématiquement, les reins, le foie, le cerveau et le fémur de ces animaux ont été prélevés et fixés immédiatement par le liquide de Carmoy.

Les fragments prélevés, après inclusion à la paraffine, ont été colorés par la méthode standard à l'hématéine érythrosine orange.

B - RESULTATS OBTENUS -

- Animaux intoxiqués par voie intraveineuse -

Le mode de sacrifice des animaux par anesthésie à l'éther peut avoir provoqué la discrête congestion des glomérules et des capillaires interstitiels que l'on retrouve dans l'étude des coupes de rein, aussi bien chez les témoins que les animaux traités.

Cette remarque faite, nous pouvons dire que les os et cerveau des animaux ayant reçu du Ca-DTPA restent très normaux.

Au niveau du foie, dans un cas, existe une discrète vacuolisation de certains hépatocytes, sans valeur pathologique.

Par contre, dans cinq cas, existe une importante accentuation de l'état congestif glomérulaire et capillaire.

Dans deux cas la congestion est équivalente à celle des témoins.

Enfin, dans un cas le rein est normal.

- Animaux intoxiqués par voie orale -

Comme dans le cas de l'administration par voie veineuse, l'examen anatomo-pathologique ne décèle aucune lésion pathologique réelle, seuls sont mis en évidence les phénomènes congestifs attribués au mode de sacrifice.

CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons, dans une première partie, tenté de rassembler sous forme d'un exposé synthétique nos connaissances sur le mécanisme de la chélation, les substances chélatrices et leur utilisation thérapeutique dans l'intoxication par le plutonium. Nous avons insisté plus spécialement sur la stabilité des chélates obtenus dont la détermination permet de prévoir leur efficacité puisque leur formation a lieu par compétition au détriment des complexes préexistants in vivo.

Nous avons envisagé, à la lumière des travaux antérieurement publiés, l'incidence de leur emploi sur un certain nombre de phénomènes dont l'élimination urinaire et fécale du plutonium qui constituent, en fait, les critères les plus significatifs pour apprécier l'efficacité des chélateurs comme agents de décontamination, puisque la diminution des taux hépatique et osseux est en rapport avec l'importance des éliminations urinaires et fécales.

La contamination par voie respiratoire est dans le cas du plutonium un problème particulièrement angoissant. Peu d'essais ont été effectués pour apprécier l'efficacité d'un chélateur en cas d'intoxication par cette voie, car l'empoussièrage expérimental d'animaux par l'oxyde de plutonium est particulièrement délicat à réaliser. Les seuls essais

réalisés dans cette voie ont montré le peu d'efficacité du DTPA administré en aérosol.

Quelques cas de traitement lors de contaminations humaines ont déjà été décrits dans la littérature. Ils concernent soit des souillures par plaies dont la meilleure indication a été généralement l'excision chirurgicale, soit des contaminations par voie respiratoire, cependant plus rares, à propos desquelles a été appliqué le traitement par le Ca-DTPA par voie intraveineuse. Ces essais parfois prolongés ont montré la parfaite tolérance du chélateur ainsi que son efficacité se traduisant notamment par une augmentation de l'excrétion urinaire.

L'étude de la toxicité des dérivés calciques, seuls employés en thérapeutique, a retenu l'attention des toxicologues qui ont signalé une néphrotoxicité, tout au moins à haute dose. Leurs études ont été orientées vers l'étude du métabolisme des chélateurs qui se sont révélés d'une manière générale très diffusibles et très rapidement excrétables.

Les trois parties suivantes ont été consacrées à l'exposé de nos travaux personnels.

Dans un premier stade, nous avons tenu, pour orienter nos recherches dans un but pratique, à vérifier l'efficacité comparée des chélateurs sur l'élimination urinaire du plutonium chez le rat intoxiqué. A cet effet, nous avons dû préalablement mettre au point une méthode de dosage qui utilise un procédé d'enrichissement, classique en toxicologie, basé sur la formation d'hydroxyde de plutonium insoluble dont on entraine la précipitation par les phosphates de l'urine à pH supérieur ou égal à 10. Le précipité est repris, dissous en solution acide, le plutonium amené à la valence IV est séparé sur résine, la solution évaporée, le résidu minéralisé et son activité α déterminée par comptage.

En possession de cette technique, nous avons comparé les efficacités des chélateurs suivants, tous sous forme de dérivés calciques :

DTPA ou acide diéthylénetriaminopentacétique ; EDTA ou acide

éthylènediaminotétracétique ; BAETA ou acide biaminodiéthylethertétracétique CDTA ou acide cyclohexanediaminotétracétique ; sur 5 lots de huit rats soumis préalablement à une injection unique de 10 µ Ci par Kg de ^{239}Pu. Les urines journalières ont été récoltées pendant 12 jours et ont montré la prééminence du DTPA sur les autres chélateurs, tant du point de vue de l'importance de l'élévation de l'excrétion urinaire que de celui de sa régularité.

Nous avons ensuite comparé l'efficacité du DTPA, en tant que meilleur représentant du groupe des dérivés polyaminopolycarboxyliques avec celle d'une molécule de structure différente, la desferrioxamine. Chez des rats, intoxiqués comme précedemment;par une injection unique de 10 µCi/Kg de ^{239}Pu, nous avons, cette fois, suivi un protocole un peu plus détaillé et comparé notamment les éliminations urinaire et fécale dans le cadre de deux types de traitement, soit six heures après la contamination, soit trois jours après.

Nous avons pu ainsi montrer que l'action de la desferrioxamine dont nous avons rappelé à cette occasion la structure complexe, procède d'un mécanisme différent. Bien que son utilisation dans la décontamination du plutonium laisse entrevoir des possibilités interessantes comparativement au DTPA, leur exploitation nécessiterait à elle seule une étude très détaillée qu'il serait peut-être prématuré d'entreprendre tant que des connaissances nouvelles plus complètes n'auront pas été acquises concernant le métabolisme de cette molécule.

Dès lors, nous nous sommes essentiellement attachée à mieux connaître le mécanisme d'action du DTPA et, en nous plaçant toujours sur le plan pratique, nous avons tenu à préciser l'influence du rythme de traitement et de la dose de DTPA employée sur l'importance de l'élimination urinaire et fécale de plutonium.

Nous avons pu montrer ainsi que le pourcentage de plutonium éliminé est d'autant plus grand que l'administration du chélateur est plus rapprochée du moment de la contamination et que, par ailleurs,

il s'avère inutile, sinon dangereux, d'administrer des doses anormalement élevées pour obtenir un rendement meilleur. En effet, pour les fortes doses, la relation effet/dose n'est plus linéaire, et bien que ,le DTPA ne possède pas une grande toxicité, il y a intérêt, comme toujours en thérapeutique, à maintenir un rapport $\frac{CE}{CT}$ le plus bas possible. Nous avons ainsi été amenée, dans le dernier chapitre, à préciser ou même à développer certaines données concernant cette toxicité ; après avoir mis en évidence la dissociation in vivo du chélate calcique grâce à l'emploi de calcium 45 radioactif.

Il faut souligner tout d'abord qu'à l'occasion d'une vérification systématique du chiffre de 2,8 g/Kg indiqué par la littérature comme représentant la DL_{50} par voie intraveineuse chez la souris, nous avons, trouvé et vérifié par la méthode graphique des "probits" le chiffre de 5,7 g/Kg. Après avoir vérifié sur le plan analytique, la pureté du produit dont nous disposions, nous avons effectué d'autres essais complémentaires qui nous ont montré que la DL_{50} variait en fait en fonction de l'âge des souris expérimentées. Cette notion souvent vérifiée en toxicologie est ici illustrée de manière particulièrement frappante et explique peut-être cette discordance sur la valeur de la DL_{50}.

Mais c'est surtout sur la toxicité semi-chronique par injection et ingestion répétées qu'ont porté plus particulièrement nos recherches. En effet, dans un cadre général d'utilisation des complexons qui déborde de celui de la décontamination du plutonium, l'attention des toxicologues a été attirée, en hygiène industrielle notamment, sur l'intérêt représenté par l'administration préventive des chélateurs chez des sujets obligatoirement exposés dans le but d'éviter d'emblée toute possibilité de localisation du toxique, par sa complexation contemporaine de sa pénétration dans l'organisme . Cette éventualité pose évidemment le problème de la toxicité à long terme du DTPA. Nous l'avons envisagé à la fois par voie intraveineuse et par voie orale, mais, à côté des vérifications désormais classiques et qui se sont révélées d'ailleurs négatives, concernant la surveillance de la croissance pondérale des animaux et l'examen anatomo-pathologique des principaux tissus, nous avons porté une attention

particulière à l'élimination accélérée, sous l'influence du DTPA, des oligoéléments dont la carence pourrait à la longue entrainer, au niveau de certains organes, de véritables lésions biochimiques. Cette étude de toxicité à court terme ou semi-chronique a porté sur une période minimale de 12 semaines et pendant tout ce temps l'élimination urinaire des cations physiologiques a été suivie. Celle du calcium d'abord, dont l'élimination urinaire a été suivie parallèlement à celle des chélateurs, mais qui ne présentait qu'un intérêt restreint, puisque le DTPA était administré sous forme calcique. Celle des oligoéléments ensuite, qui a nécessité la mise au point de techniques spéciales et notamment d'une technique spectrographique consécutive à un enrichissement chimique préalable par extraction successives à pH alcalin par la dithizone et l'acide diéthylthiosulfocarbamique.

Dans ces conditions, nous sommes aperçue très rapidement que, sur un plan quantitatif, il fallait surtout retenir, à côté de l'élimination du sodium et du calcium, celle du cuivre et du zinc. Dans certains cas, pour apprécier avec plus de précision l'élimination de ces deux derniers cations, nous avons mis en oeuvre la technique moderne de dosage par polarographie à tension carrée. Nous avons pu constater que l'élimination du cuivre était relativement modérée, mais que celle du zinc par contre était relativement importante, ce qui n'est évidemment pas en faveur d'une utilisation prolongée du chélateur.

En conclusion, ce travail évidemment fragmentaire dans le cadre d'une question aussi vaste que celle des chélateurs et de leur emploi en toxicologie, nous a permis de confirmer, dans le cas particulier de la contamination par le plutonium, la supériorité du DTPA sur les autres chélateurs proposés et l'intérêt qui s'attache à l'administrer de manière particulièrement précoce.

Sur un plan plus général, nous avons pu montrer également que son administration répétée favorisait les fuites hors de l'organisme de certains oligoéléments et notamment du zinc, ce qui incite à n'envisager son utilisation dans un but de prévention qu'avec beaucoup de prudence.

B I B L I O G R A P H I E

1 - MORGAN G. T., DREW H. D. K. - J. Chem. Soc. 117, 1456 (1920)

2 - GILBERT J. - Traité de Chimie Physique, 280, Masson (Paris) (1963)

3 - PAULING L. - The nature of the chemical bond, 2nd Ed., Ithaca New-Yorck Cornell University Press (1940)

4 - BAILAR J. C. - Chemistry ot the Coordination compounds, Reinhold Publishing Corp., New York London (1956)

5 - PANNETIER G. - Atomistique, Liaisons chimiques, Masson (Paris) (1962)

6 - PFEIFFER P. - Z. Anorg. Chem. 29, 107 (1901)
Z. Anorg. Chem. 56, 261 (1907)

7 - WERNER A. - Ber 40, 2113 (1907)

8 - SCHWARZENBACH G. - Die Komplexometrische Titration, F. Eucke (Stuttgart) (1946)

9 - SAWYER D. T. - Annals of the New York, Acad. of Sc. V. 88, p. 307, Art. 2 (1960)

10 - SCHWARZENBACH G., ACKERMANN H. - Helv. Chim. Acta 31, 1029 (1948)

11 - CHABEREK S., MARTELL A. E. - Organic Sequestring Agents, J.Wiley & Sons Inc. Publishers (London) (1959)

12 - MARTELL A. E., CALVIN M. - Chemistry of the Metal Chelate Compound, Prentice Hall Inc. (Englewood Cliffs N. Jersey) (1962)

13 - MARTELL A. E. - Metal Binding in Medecine, J. B. Lippincott Compagny Philadelphia-Montreal, 1 (1960)

14 - HAISSINSKY M. - J. Phys. Radium, 7, 7 (1946)

15 - PETERS R. A., STACKEN L. A., THOMPSON R. H. S. - Nature 156, 616-619, (1945)

16 - WATERS L. L., STACK C. - Science 102 , 601-606, (1945)

17 - KETY S. S., LETONOFF T. V. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 46, 476-477 (1941)

18 - KETY S. S. - J. Biol. Chem., 142, 181-192 (1942)

19 - PAINTER E., RUSSEL E., PROSSER C. L., SWIFT M. N., KISIELESKI W., SACHER G. - AECD-2042

20 - KAWIN B., COOP D. H. - Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 84, 576-577 (1953)

21 - BERSWORTH F. C. - cité par Martell et Calvin, Chemistry of the metal chelate compounds, Prentice Hall Inc. (Englewood Cliffs N. Jersey), 509 (1962)

22 - DYCKERHOFF H., MARX R., LUDWIG H. - Z. ges. exp. Med., 110, 412-422 (1942)

23 - TRUHAUT R., BOUDENE C., ALBAHARY C. - Arch. des Mal. Prof. 18 n° 1, 40-46 (1957)

24 - TRUHAUT R.n BOUDENE C., ALBAHARY C., DESCILLE H. - La Presse Médicale, 69° année n° 48, 2121-2123 (1961)

25 - MARTIN S., BOUDENE C., TRUHAUT R., ALBAHARY C. - Arch. des Mal. Prof. 25 n° 7/8, 407-418 (1964)

26 - FOREMAN H., HAMILTON J. G. - AECD-3247 (1951)

27 - SCHUBERT J. - Proc. Inter. Conf. of Genève, 13, 319-348 (1955)

28 - SCHUBERT J. - Nucléonics 8, 13-28 (1951)

29 - COPP D. H., GREENBERG D. M. - MDDC-1001, 11-26 (1944)

30 - RUBIN M., MARTELL A. E., BERSWORTH F. C. - The Biological Action of the Versenes, Versenes Incorparated, Framingham, Mas. (1954)

31 - BALLOU J. E. - HW-76 000, 11-17 (1963)

32 - Rapport du comité II de la Commission Internationale de Protection Radiologique, Gauthier-Villars (Paris), 88 (1963)

33 - KRAUSS K. A. - Proc. Inter. Conf. of Genève, 7, 245-257 (1955)

34 - SCHUBERT J., FINKEL M., WHITE M. R. - J. Biol. Chem. 182, 635 (1950)

35 - LINDENBAUM A., WESTFALL W. M., ROSENTHAL M. W., MARKLEY J. F. - ANGL-6823, 111-113 (1964)

36 - SMITH V. H. - HW-53500, 135-142 (1958)

37 - KAWIN B., SMITH V. H. - HW-56928 6 (1958)

38 - SMITH V. H. - HW-59500 (1958)

39 - BALLOU J. E., SMITH V. H. - HW-61247 (1959)

40 - BALLOU J. E., SMITH V. H. - HW-62638 (1960)

41 - BALLOU J. E., SMITN V. H. - HW-63643 (1960)

42 - BALLOU J. E., SMITH V. H. - HW-65500 78-81 (1961)

43 - BALLOU J. E.,- Health Physics 8, 731-734 (1962)

44 - BALLOU J. E. - Nature 4822, 1303-1304 (1962)

45 - BALLOU J. E., PALOTAY J. L. - HW-SA-3679 (1962)

46 - SMITH V. H. - HW-7600, 143-148 (1963)

47 - SCHUBERT J. - J. Ann. Rev. Nucl. Sci. 5, 369-412 (1955)

48 - FRIED J. F., GRAUL E. H., SCHUBERT J., WESTFALL W. M. - Atompraxis Dtsch. 5 n° 1, 1-5 (1959)

49 - SCHUBERT J., FRIED J. F., ROSENTHAL M. W., LINDENBAUM A. - ANGL.6264, 117-181 - (1959)

50 - SCHUBERT J., FRIED J. F., ROSENTHAL M. W. - Rad. Rest. 15, 220-226(1961)

51 - LINDENBAUM A., SCHUBERT J. - Nature 4737, 575-576 (1960)

52 - LINDENBAUM A., MARKLEY J.F., ROSENTHAL M. W., WESTFALLW M., MORETTI E. S. - ANGL. 6723, 146-148 (1962)

53 - ROSENTHAL M. W., MARKLEY J. F., LINDENBAUM A. - ANGL. 6790, 92-95 (1962)

54 - LINDENBAUM A., MARKLEY J. F., ROSENTHAL M. W. - Health Physics 8, 695-697 (1962)

55 - MARKLEY J. F., ROSENTHAL M. W., LINDENBAUM A. - Health Physics 8, 739 (1962)

"56 - MARKLEY J. F., ROSENTHAL M. W., LINDENBAUM A. - ANGL 6823, 105-108(1964)

57 - MARKLEY J. F., ROSENTHAL M. W., LINDENBAUM A. - ANGL 6823, 109-110 (1964)

58 - MARKLEY J. F. - ANGL 6906, 90-91 -1964)

59 - MARKLEY J. F., ROSENTHAL M. W., LINDENBAUM A. - Intren. J. Radiation Biol. 8, 271-278 (1964)

60 - SEMENOV D. I., TREGUBENKO I. P. - Biokhimija 1, 59-65, CEA-Tr-1193(1964)

61 - BELYAEV Yu. A. - Meditsinskaya Radiologika SSSR 5 n° 2, 54-58 (1960) Traduction JPRS 5078

62 - CATSCH A., SCHINDEWOLF-JORDAN D. - Nature 4789, 715 (1961)

63 - CATSCH A. - Health Physics 8, 725-730 (1962)

64 - ROSENTHAL M. W., FRIED J. F., LINDEMBAUM A., SCHUBERT J. - ANGL 6264, 172-176 (1958)

65 - ROSENTHAL M. W., MARKLEY J. F., LINDENBAUM A. - ANGL 6723, 144-148 (1962)

66 - ROSENTHAL M. W., MARKLEY J. F., LINDENBAUM A. - ANGL 6790, 87-91 (1962)

67 - ROSENTHAL M. W., MARKLEY J. F., LINDENBAUM A. - ANGL 6823 (1964)

68 - TOMBROPOULOS E. G., BAIR W. J. - HW 76000, 136-142 (1963)

69 - TOMBROPOULOS E. G., BAIR W. J., PARK J. F. - Nature 4881,703-704 (1963)

70 - CABLE J. W., BEATRICE J., McCLANAHAN, HORTSTMAN V. G., WOOD D. H., BUSTAD L. K. - HW 76000, 149-155 (1963)

71 - EARL C. A. - HW-SA63675 (1964)

71 bis - FOREMAN H. - Diagnosis and Treatment of Radioactive Poisoning, I. A. E. A. (Vienne) 387-411 (1963)

72 - SELBY J. M. - HW-SA-3676 (1964)

73 - NORWOOD W. D. - J. Occupationnal Med. 2 371-376 (1960)

74 - JEANMAIRE L., PATTI F., AUDREN M. L. - Assessment of Radioactivity in Man : I. A. E. A. (Vienne) 617-628 (1964)

75 - LAGERQUIST C. R., HAMMOND S. E., PUTZIER E. A., PILTINGSRUD C. W. - 10th Annual Bioarsay and Analytical Chemistry Meetings, Cincinnati Conf. 7 27-31 (1964)

76 - SWANBERG F., HENLE R. C. - J. of Occupat. Med. 6 n° 4 174-177 (1964)

77 - LAGERQUIST C. R., HAMMOND S. E. - RFP 577 (1965)

78 - HAMMOND S. E. - WASH 1023 (1959)

79 - PUTZIER E. A., LAGERQUIST C. R., HAMMOND S. E., MANN J. R. - RFP-446 (1965)

80 - NORWOOD W. D. Diagnosis and Treatment of RAdioactive Poisoning. International Atomic Energy Agency (Vienne), 307-308 (1963)

81 - SMITH V. H. - HW 76000, 156-160 (1963)

82 - FOREMAN H., VIER M., MAGEE M. - J. Biol. Chem. 203, 1045-1053 (1953)

83 - FOREMAN H., TRUJILLO T. T. - J. Lab. Clin. Med. 43, 566-571 (1954)

84 - SPENCER H. - Ann N. Y. Acad. Sci. 88; 435 (1960)

85 - BAUER R. O., RULLO F. R., SPOONER C., WOODMAN E. - Fred. Proc. 11, 321 (1952)

86 - CATSCH A. - Arch. Exp. Path. U. Pharmak. 246, 316-329 (1964)

87 - FOREMAN H., MAGEE M. - LAMS 2445, 54-58 (1959)

88 - FOREMAN H., LUSHBAUGH C. C., MAGEE H., HUMASON G. - LAMS 2445, 67-70 (1959)

89 - FOREMAN H., FINNEGAN C., LUSHBAUGH C. C. - J. Am. Med. Ass. 160, 1042 (1956)

90 - STEVENS E., ROSOFF B., WEINER M., SPENLER H. - Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 111 n° 2, 235-238 (1962)

91 - TUCHMANN-DUPLESSIS H., MERCIER-PAROT L. - C. R. Acad. Sci. 243 1064-1066 (1956)

92 - HENRY Ph. - Note CEA 300 (1959)

93 - MARSHALL SANDERS Jr S. - DP 146 (1956)

94 - CARLESON GORAN - A/Conf. 15/P/137, Sweden, June 1958

95 - METZ C. F. - Tenth annual summer symposium, Nucleonics and analytical chemistry, december 1957, 29 n° 12

96 - TORIBARA T. Y., MORKEN D. A., PREDMORE C. - UC 48

97 - LANGHAM W. H. - Health Physics 2, 172-185 (1959)

98 - TRIPOD J. - Nouv. Rev. Franc. Hémat. 3 n° 1, 1-4 (1963)

99 - TRIPOD J., KEBERLE H. - Helv. Med. Acta 29, 5/6 674-679 (1962)

100 - ALBAHARY C , PHU-LICH N. , BOUDENE C., MARTIN S. - Thérapie XIX , 201-217 (1964)

101 - SMITH V. H. - Nature 204 n° 4961, 899-900 (1964)

102 - ROSENTHAL M. W., LINDENBAUM A. - Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 117 n° 3 749-750 (1964)

103 - KOLMER J. A. - J. Pharmacol. 17, 431-443 (1921)

104 - BIENVENU P. - Toxicité générale aigüe et propriétés physicochimiques des ions métalliques (Thèse Lyon) p. 60 (1965)

105 - TREVAN J. W. - Proc. Roy. Soc. B 101, 483-514 (1927)

106 - GADDUM J. H. - Pharmacological Rev. 5, 87-134 (1953)

107 - BLISS C. L. - J. Pharm. Pharmacol. 11, 192 (1938)

108 - MORETTE A. - Initiation au calcul statistique des erreurs et à quelques applications pharmaceutiques. SEDES Paris (1951)

109 - BONET-MAURY P. - C. R. Soc. Biol. 137, 400-402 (1943)

110 - DARBEY A. - Anal. Chem. 24, 373-378 (1952)

111 - BOKOWKI D. L., HAMMOND S. E. - RFP 510 (1965)

112 - MILLAR M. J., FISCHER M. I., MAWSON C. A., ELCOATE P. V. - Nature 4436, 881 (1954)

113 - BELLIN J., LASZLO D. - Science 117, 331-334 (1953)

- TABLE DES MATIERES -

- INTRODUCTION - 1

- PREMIERE PARTIE - Généralités.

- CHAPITRE I - 5

Généralités sur la chélation et sur les chélates métalliques.

1 - Types de liaisons 6
2 - Comportement des ions métalliques en solution 9
3 - Substances chélatrices et composés formés 10
4 - Structure des chélates 14
5 - Propriétés physico-chimiques des chélates 17

- CHAPITRE II - 24

Utilisation thérapeutique des chélateurs dans l'intoxication par le plutonium.

1 - Augmentation de l'élimination urinaire et fécale du plutonium 27
2 - Incidence du traitement sur le développement des tumeurs 32
3 - Incidence du traitement sur les contaminations par voie respiratoire 33
4 - Incidence du traitement sur les contaminations transcutanées 34
5 - Traitement des contaminations humaines 35

- CHAPITRE III - Toxicité des chélateurs. 38

- CHAPITRE IV - Conclusions. 40

- DEUXIEME PARTIE - 42

Efficacité comparée des différents chélateurs sur l'élimination urinaire du plutonium chez le rat intoxiqué.

- CHAPITRE I -

Efficacité des acides polyaminopolycarboxyliques.

1 - Protocole opératoire 43
2 - Méthode de dosage du plutonium 45
3 - Résultats 48

- CHAPITRE II - 53

Efficacité de la desferrioxamine.

1 - Protocole opératoire 54
2 - Résultats 57

- TROISIEME PARTIE - 62
Etude des modalités d'action du D.T.P.A.

- CHAPITRE I -

Influence du rythme de traitement sur l'élimination du plutonium.

1 - Résultats de l'élimination urinaire 63
2 - Résultats de l'élimination fécale 70

- CHAPITRE II -

Influence de la dose injectée sur l'excrétion urinaire du plutonium. 78

- CHAPITRE III -

Etude sur le rat des modalités d'élimination du calcium après injection de ^{45}Ca.DTPA. 81

1 - Protocole opératoire 81
2 - Résultats 82

- QUATRIEME PARTIE - Etude de la toxicité du DTPA. 88

- CHAPITRE I - Toxicité aigüe 88

- CHAPITRE II - Toxicité chronique. 94

1 - Protocole opératoire 94
2 - Incidence sur la croissance des animaux 96
3 - Influence sur l'élimination des cations physiologiques 97
4 - Etude des altérations histologiques 114

- CONCLUSIONS GENERALES - 116